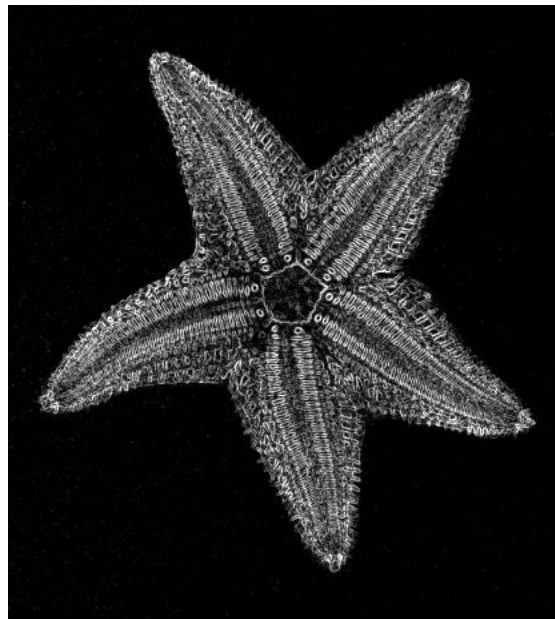


Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss von erhöhtem Seewasser $p\text{CO}_2$ auf den gemeinen Seestern *Asterias* *rubens* L. in der Ostsee

Staatsexamensarbeit

Christian-Albrechts-Universität Kiel
März 2011

Sebastian Opitz



INHALT

Inhalt	Error! Bookmark not defined.
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Abstract	VII

A. Einleitung.....	1
1. Ozeanversauerung als globaler Stressor	1
2. Der Effekt von Ozeanversauerung auf kalzifizierende Organismen	5
2.1 Analysierbarkeit und Prognosefähigkeit von Versauerungsstudien	5
2.2 Hinweise auf Versauerungseffekte durch paläontologischen Studien.....	6
2.3 Kalzifizierungsprobleme bei sinkendem Seewasser pH.....	7
2.4 Ökologische Bedeutung.....	8
2.5 Physiologische Effekte	10
3. Das Untersuchungsgebiet der Kieler Förde	14
4. Die untersuchte Art <i>Asterias rubens</i>	16
4.1 <i>Asterias rubens</i> in der Ostsee.....	16
4.2 Effekte von Umweltstress.....	17
4.2.1 Respiration.....	18
4.2.2 Wachstum.....	18
4.2.3 Aktivität.....	19
4.2.4 Körperzusammensetzung und Kalzifizierung	19
4.2.5 Nahrungsaufnahme	21
4.2.6 Langzeitversuche zur Ozeanversauerung mit <i>Asterias rubens</i>	21
5. Motivation, Fragestellung und Hypothesen der Arbeit	23

B. Methoden 25

1. Sammlung der Organismen	25
2. Versuchsaufbau	25
2.1 Genereller Aufbau	25
2.2 Modifikation des Aufbaus	29
5. Monitoring der Versuchsbedingungen.....	29
6. Probennahme.....	31
6.1 Wachstum.....	31
6.2 Fraß	31
6.3. Aktivitätsmessungen.....	32
6.4 Respirations-und Exkretionsmessungen	33
6.5 Kalzifizierungsuntersuchungen	34
7. Statistische Analyse.....	37

C. Ergebnisse..... 38

1. Wachstum: Größen-und Gewichtsentwicklung	38
1.1 Übersicht über die Gesamtveränderung	38
1.2 Gewichtsentwicklung	40
1.2 Veränderung des Gewichts	40
1.2 Gewichtsveränderung	41
1.3 Größenveränderung	44
2. Fraß	47
3. Aktivitätsmessungen	51
4. Metabolische Untersuchungen	53
4.1 Ammonium (NH_4^+)-Exkretion.....	53
4.2.Respirationsmessungen	54
4.3 Verhältnis von Sauerstoffaufnahme zur Exkretion (O:N-Verhältnis)	55
4.4 Scope for Growth, Energieeffizienz und Vergleich der Energie-Nutzungsbilanz	56
4.4.1 Scope for Growth.....	56
4.4.2 Energieeffizienz der Nahrungsumsetzung	57
4.4.3 Bilanz der Energienutzung.....	61
5. Kalzifizierung.....	63
5.1 Quantifizierender Vergleich des Skelettgewichtanteils am Trockengewicht	63

5.2 Strukturell-Qualitativer Vergleich anhand von Röntgenaufnahmen	64
5.2.1 Vergleich der Ambulakralkbögen pro Armlänge als Indikator für funktionale Änderungen in der Skelettstruktur	66
5.2.2 Vergleich von Graustufen der Röntgenaufnahmen	67
5.3 Bestimmung der Kalzifizierungsdichte.....	69
5.3 Untersuchung Zum Feinbau von Skelett- Strukturen.....	70

D. Diskussion 71

1. Methoden	71
1.1 Versuchsaufbau und Probennahme	71
1.2 Wachstums-und Fraßmonitoring	72
1.3 Aktivitätsmessungen.....	72
1.4 Metabolismusuntersuchungen	72
1.5 Untersuchung der kalzifizierung.....	73
2. Wachstumsänderung und Fraßmonitoring	75
2.1 Hypothesenprüfung	75
2.2 Variabilität der Reaktion	75
2.3 Adaptationsfähigkeit der Tiere	76
2.4 Ökologische Bedeutung.....	78
3. Aktivitätsmessungen	80
4. Metabolismus-Untersuchungen	81
4.1 Exkretion	81
4.2 Respiration	82
4.3 O:N-Verhältnis	84
4.4 Scope for Growth	85
4.5 Energetische Effizienz und Bilanz der Energienutzung	86
5. Untersuchungen der Kalzifizierung	88
6. Ausblick	91

E. Zusammenfassung..... 93

F. Literaturverzeichnis..... 96

G. Anhang.....	103
1. Ergänzungsgrafiken zur Gewichtsveränderung (in gramm).....	103
2. Ergänzungsgrafiken zum Größenwachstum (in cm)	104
3. Übersicht Skelett-Feinstrukturen	106
4. ANOVA-Tabelle	109
 H. Danksagung.....	 112
 I. Erklärung.....	 113

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Einleitung

Abb.1 Konzentrationsänderung von CO_2 , HCO_3^- und CO_3^{2-} bei sinkendem pH im Meer	2
Abb.2 Prognosen für die Veränderung des Carbonatsystems durch Ozeanversauerung	3
Abb.3 Veränderung der Parameter des marinen Carbonatsystems bei Primärprozessen	4
Abb.4 Reaktion der Kalzifizierung von 18 Arten auf Seewasserversauerung	8
Abb.5 Davenport-Diagramm zur ausbleibenden pH_e -Regulation von <i>Asterias rubens</i>	11
Abb.6 Fluktuation und Prognosen für die Seewasserversauerung in der Kieler Förde	14
Abb.7 Binokularaufnahme und Schema von Ambulakraltbögen bei <i>Asterias</i>	20

Methoden

Abb.8 Beschriftete Übersicht über den Versuchsaufbau	26
Abb.9 Anordnung der Aquarien der verschiedenen Versuchsbedingungen im Experiment	28
Abb.10 Methode der Größenmessung	31
Abb.11 Ausgabe des CT Kalzium-Screenings (Dichtemessung der Kalzifizierung)	36
Abb.12 Ausschnitte zur Analyse der Graustufen der Röntgenaufnahmen	36

Ergebnisse

Abb.13 Überblick: Wachstumsveränderungen aller Seesterne nach 6 Versuchswochen	39
Abb.14 Durchschnittlicher Größenzuwachs dargestellt durch repräsentative Tiere	40
Abb.15 Prozentuale Gesamtänderung der Biomasse nach 6 Versuchswochen	41
Abb.16 Prozentuale Entwicklung der Biomasse über die 6 Versuchswochen	42
Abb.17 Prozentualer Biomassezuwachs pro Woche über die 6 Versuchswochen	43
Abb.18 Prozentuale Gesamtänderung der Größe nach 6 Versuchswochen	44
Abb.19 Prozentuale Entwicklung der Größe über die 6 Versuchswochen	45
Abb.20 Prozentuale Größenentwicklung pro Woche über die 6 Versuchswochen	46
Abb.21 Gesamtfraßmenge nach 6 Versuchswochen	47
Abb.22 Entwicklung der Gesamtfraßmenge über die 6 Versuchswochen	48
Abb.23 Fraßmenge pro Woche über die 6 Versuchswochen	49
Abb.24 Entwicklung des ausbleibenden Fraßes über die 6 Versuchswochen	50
Abb.25 Aktivität der Seesterne der 3. und 6. Versuchswochen. Keine Größenbereinigung.	51
Abb.26 Aktivität als standardisierte Umkehrdauer nach 3 und nach 6 Versuchswochen	52
Abb.27 Ammonium-Exkretion nach 6 Versuchswochen	53
Abb.28 Respiration nach 6 Versuchswochen	54
Abb.29 Verhältnis von Respiration zu Exkretion (O:N-Verhältnis)	55
Abb.30 <i>Scope for Growth</i> nach 6 Versuchswochen	56
Abb.31 Verhältnis von aufgebauter zu aufgenommener Energie (ANOVA)	57
Abb.32 Verhältnis von aufgebauter zu aufgenommener Energie (Scatterplot)	58
Abb.33 Verhältnis von aufgebauter Energie zum <i>Scope for Growth</i> (ANOVA)	59
Abb.34 Verhältnis von aufgebauter Energie zum <i>Scope for Growth</i> (Scatterplot)	60
Abb.35 Übersicht über veränderte Energienutzungsschemata	61
Abb.36 Quantität der Kalzifizierung: Skelettgewichtsanteil am Trockengewicht	63

Abb.37 Übersicht über die Röntgenaufnahmen an 9 Seesternen (N=3)	65
Abb.38 Qualität der Kalzifizierung: Ambulakralkbögen pro Armlänge	66
Abb.39 Qualität der Kalzifizierung: Graustufenanalyse der Wachstumszonen	67
Abb.40 Qualität der Kalzifizierung: Graustufenanalyse der gesamten Tiere	68
Abb.41 Qualität der Kalzifizierung: Kalk - Dichtebestimmung über Kalzium-Scoring	69
Abb.42 Beispielbilder für die Feinstrukturen des Skeletts	70
Abb.43 Gesamtes Wachstum juveniler <i>A. rubens</i> nach 9 Versuchsmonaten	77
Abb.44 Gesamte Fraßmenge juveniler <i>A. rubens</i> nach 9 Versuchsmonaten	77

Anhang

Abb.45 Gesamtänderung der Biomasse nach 6 Versuchswochen (in g)	103
Abb.46 Entwicklung der Biomasse über die 6 Versuchswochen (in g)	103
Abb.47 Biomassezuwachs pro Woche über die 6 Versuchswochen (in g)	104
Abb.48 Gesamtänderung der Größe nach 6 Versuchswochen (in g)	104
Abb.49 Entwicklung der Größe über die 6 Versuchswochen (in g)	105
Abb.50 Größenentwicklung pro Woche über die 6 Versuchswochen (in g)	105

TABELLENVERZEICHNIS

Tab.1 Gewicht und Größe der Tiere bei Versuchsbeginn	27
Tab.2 Parameter des Carbonatsystems vor und nach der Versuchsmodifikation	30
Tab.3 Ergebnis-Zusammenfassung aller untersuchter Parameter	93
Tab.4 Übersicht über Aufnahmen der Skelettfeinstrukturen	107
Tab.5 ANOVA-Ergebnisse	108

SUMMARY

Near-future ocean acidification has been shown to decrease performance of various – especially calcifying – species. Naturally high- $p\text{CO}_2$ environments such as Kiel Fjord (Germany) can already today help to estimate possible effects of ocean acidification.

This study used a short term (6 weeks) experiment to elucidate effects of ocean acidification on the common starfish *Asterias rubens* in the Baltic sea. Results showed a significant decrease in growth and feeding rates among juveniles at high- $p\text{CO}_2$ conditions (3130 μatm). The same (yet insignificant) trend at intermediate levels (1100 μatm) was found, showing that adaptation of juveniles to lowered seawater pH has not yet taken place in Kiel Fjord.

A trend (non-significant) of metabolic depression at high- $p\text{CO}_2$ was found, while ammonia-excretion increased significantly with lowered seawater pH. These results express a decreasing O:N atomic ratio, suggesting higher rates of protein degradation as a source of energy. This was suggested to be an energy-expensive means of compensatory proton extrusion via NH_4^+ -excretion to make up for the lack of an efficient ion-regulatory machinery.

Using simple energetic transformations, this study shows a trend of changing patterns of energetic investments with decreasing $p\text{CO}_2$: While more energy needs to be channeled into maintenance and hypercapnia-compensation processes, the amount of energy left for growth (*Scope for growth*) decreases with higher $p\text{CO}_2$. It was found that animals at high $p\text{CO}_2$ with catabolic energy balances showed no resources to grow because they invested proportionally large amounts of energy into respiration and excretion (and probably other means of hypercapnia-compensation), leaving no energy for growth. This work suggests that reduced growth rates of *A. rubens* individuals at high $p\text{CO}_2$ are caused by changing patterns of energy investment. Further research is needed to investigate whether the process of feeding and its efficiency is affected by lowered seawater pH and whether it is linked to a general decreased size of the animals.

Calcification rates were found not to be effected quantitatively. Yet, significant difference were observed for structural parameters and the density of the calcified tissues in a low-replicate (N=3) pilot-study using X-ray and CT analysis. Even though these results may not be representative for a larger number of animals, the analysis still shows that subtle effects on calcification can be detected and may pose a tool to better understand the causes for the observed reductions in growth and feeding.

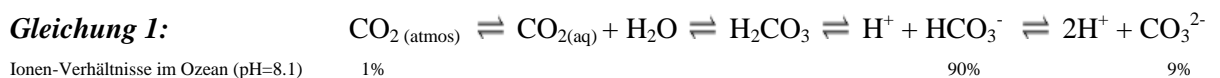
The outcome of the study shows that about 1/3 of the juveniles tested are not able to grow at high $p\text{CO}_2$ -conditions, while the general response of *A. rubens* to ocean acidification is highly variable. Even though longer multi-generation experiments with focus on ecosystem interactions are needed to find clues for effects on an ecosystem scale, this study suggests that during prolonged high- $p\text{CO}_2$ upwelling-events, the ecosystem-structure in Kiel Fjord might be liable to changes in the near future due to decreasing recruitment of juveniles into the adult life stage.

A. EINLEITUNG

1. OZEANVERSÄUERUNG ALS GLOBALER STRESSOR

Seit Beginn der Industrialisierung ist durch die anthropogene Nutzung fossiler Brennstoffe sowie durch die Abholzung von Wäldern die Konzentration an atmosphärischem CO₂ von etwa 280 auf 384 ppm gestiegen, was bis heute bereits einer Steigerung um knapp 40% entspricht (Doney & Schimel 2007 ; Solomon et al. 2007). Neben dem CO₂-Anstieg sorgen weitere anthropogen verursachte Treibhausgase (Methan, Lachgas, Halogenkohlenwasserstoffe, ...) für einen Strahlungsantrieb von 1,6 W m⁻², sodass eine graduelle Erwärmung der Atmosphäre stattfindet. 70% der Erdoberfläche sind von Wasser bedeckt. Gas-und Wärmeaustausch zwischen Atmosphäre und den Weltmeeren findet an der Wasseroberfläche statt, sodass der steigende Anteil von CO₂ in der Atmosphäre im Meerwasser gelöst wird. Neben dem steigenden Partialdruck von CO₂ in den Ozeanen ist ebenfalls mit einem Temperaturanstieg in den Oberflächengewässern zu rechnen (Körtzinger 2010).

Im Meer reagiert CO₂ zu Kohlensäure, welches unter Abgabe von H⁺-Ionen zu Bicarbonat und bzw. noch weiter zu einem Carbonation reagiert.



Eine Steigerung des CO₂-Gehaltes im Wasser führt zur Verschiebung des Verhältnisses dieser reversiblen Reaktion, was zu einer proportionalen Steigerung der H⁺-Konzentration (und damit einer pH-Senkung, also Ozeanversauerung) und einer Absenkung der Carbonationen-Konzentration führt (**Abb.1**).

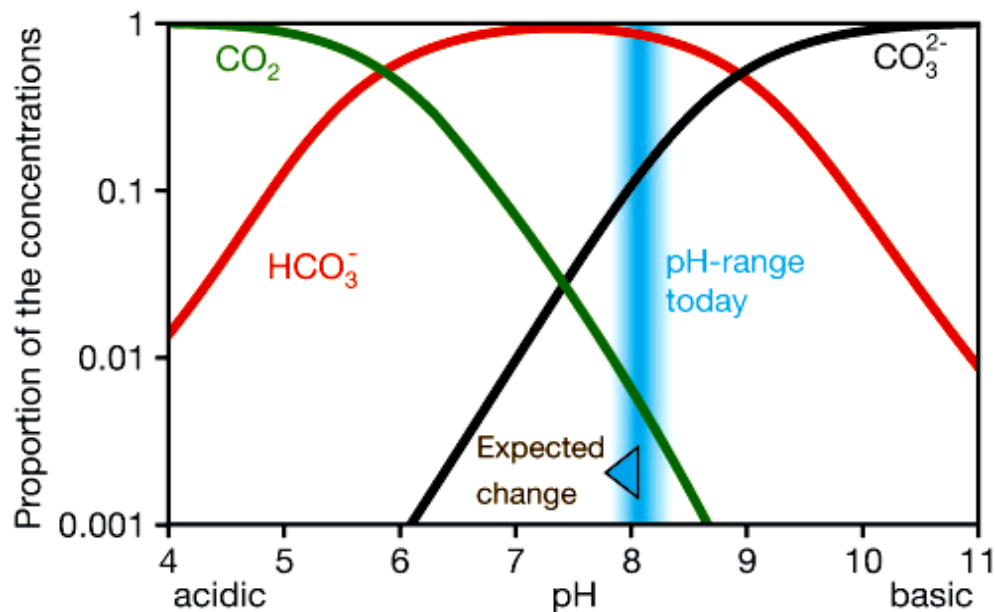


Abb.1 Abhängigkeit der Spezifikation des Carbonatsystems vom pH-Wert. Die Spanne der erwarteten Veränderung durch die Ozeanversauerung ist blau schraffiert.

Aus: WBGU (German advisory panel on climate change). www.wbgu.de (Stand: 10.1.2011)

Als Anhaltspunkt für die zu erwartenden Änderungen kann eine Absenkung des durchschnittlichen Oberflächen-pHs von 8,15 ($\approx p\text{CO}_2$ von 280 μatm) in vorindustrieller Zeit um 0,3 Skaleneinheiten auf pH 7,85 ($\approx p\text{CO}_2$ von 700 μatm) im Jahr 2100 gewertet werden (Turley et al. 2010), was einem Anstieg der H^+ -Konzentration um 100% entspricht und seit 300 mio. Jahren nicht mehr in diesem Umfang vorgekommen ist (Caldeira & Wickett 2003).

Durch die pH-gesteuerte Änderung der Ionenverhältnisse des Carbonatsystems besitzt das Meer eine Pufferkapazität, die für eine – im Vergleich zu Süßwasser – geringe Schwankungsbreite des pHs im Meer sorgt (Körtzinger 2010). Durch die Pufferkapazität des Meeres und dessen Aufnahmefähigkeit für atmosphärisches CO_2 stellen die Weltmeere eine Senke für etwa 30-50% der bis heute anthropogen verursachten CO_2 -Emissionen dar (Sabine et al. 2004). Damit haben die Weltmeere deutlich mehr CO_2 gespeichert als terrestrische CO_2 -Senken (Scott et al. 2009). Da etwa 12mal mehr anorganischer Kohlenstoff in den Weltmeeren gelöst ist als in der kompletten terrestrischen Biosphäre gespeichert ist, bestimmt langfristig der Ozean den atmosphärischen CO_2 -Gehalt (Körtzinger 2010).

Die Fähigkeit des Meeres CO_2 aufzunehmen, hängt von der Dissoziation der Kohlensäure in die Ionen Bicarbonat und Carbonat ab (siehe **Gleichung 1**). Dass durch Formung oder Auflösung von Kalkstrukturen im Meer Carbonationen frei oder gebunden werden, zeigt **Gleichung 2**. Kalkbildung beeinflusst demnach auch das marine Carbonatsystem.



Es kommt hierbei trotz der Abnahme von gelöstem anorganischem Kohlenstoff durch den Entzug an Carbonationen aus dem Seewasser zu einer Steigerung des CO_2 -Partialdrucks (vergleiche Ionenverhältnisse und CO_2 -Konzentration in *Abb.1*), was zu einem Ausgasen von CO_2 aus dem Meer führt. Im Gegensatz dazu bedingt Kalkauflösung eine Senkung des $p\text{CO}_2$ s, was zu einer gesteigerten Aufnahme von CO_2 aus der Atmosphäre und zu weiterer Meeresversauerung führt (Körtzinger 2010). Eine Beschreibung möglicher Probleme der Kalzifizierung bei steigendem Seewasser-pH findet sich unter [2.1](#).

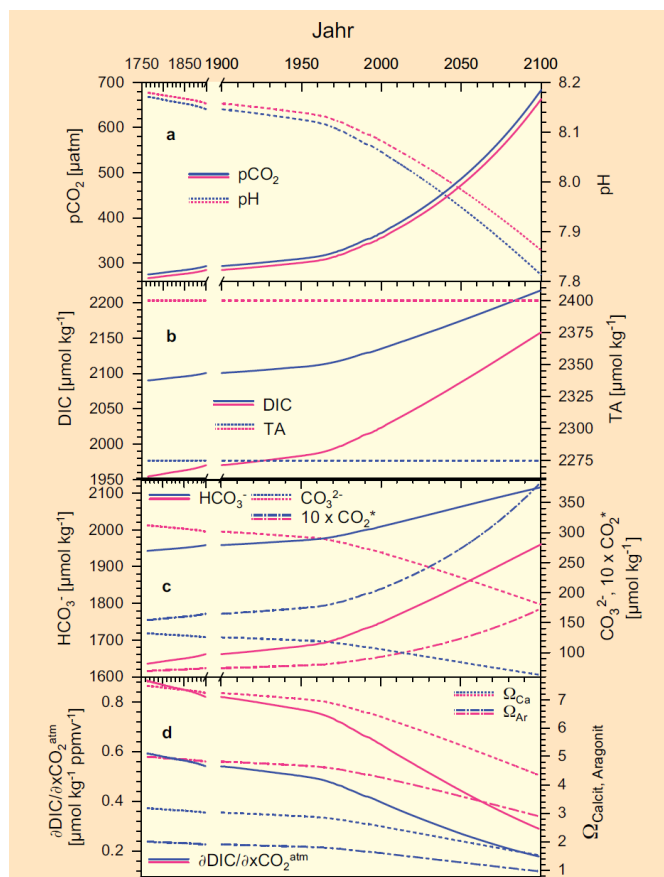


Abb.2

Prognosen für die Entwicklung des Carbonatsystems im Zeitraum von 1750 bis 2100. Kaltwasserregionen als blaue Linien, Warmwasserregionen als rote Linien.

a $p\text{CO}_2$ und pH-Werte

b DIC und Gesamtalkalität (TA)

c Veränderliche Verhältnisse von CO_2 , Carbonationen (CO_3^{2-}) und Bicarbonationen (HCO_3^-) im Meerwasser mit veränderlichen pH-Werten.

d Aufnahmefähigkeit der Ozeane für CO_2 (links) und Sättigungsgrade der Kalkkristalle Kalzit (Ω_{Ca}) und Aragonit (Ω_{Ar}), rechts.

Aus: Körtzinger (2010)

Das Carbonatsystems des Seewassers kann von 4 Faktoren genau beschrieben werden: Erstens durch die Gesamtalkalität (TA) als Maß für das Säurebindungsvermögen des Ozeans (Beschreibung der Pufferfunktion des Carbonatsystems), zweitens durch die Menge des gesamten gelösten anorganischen Kohlenstoffs (DIC), drittens durch den pH-Wert und viertens durch den CO_2 -Partialdruck ($p\text{CO}_2$) im Meerwasser. Der pH-Wert und der $p\text{CO}_2$ sind dabei stark antikorreliert und im Gegensatz zu TA und DIC temperaturabhängig.

Die Gesamtalkalität wird durch das Einbringen des anthropogenen CO_2 s kaum verändert, jedoch durch Kalzifizierung gesenkt bzw. durch Kalkabbau gesteigert (*Abb.3*). Diese Größe ist seit vorindustrieller Zeit ungefähr konstant geblieben (Körtzinger 2010). Die Zunahme des DIC-Werts als buchhalterische Größe ist regional stark unterschiedlich und in warmen Gebieten etwa 60% höher als in kalten, sodass gerade in den warmen Regionen vermehrt atmosphärisches CO_2 vom Meer aufgenommen werden kann. Auch wenn ständig Kohlenstoff dem Oberflächenwasser durch kontinuierliches Absinken

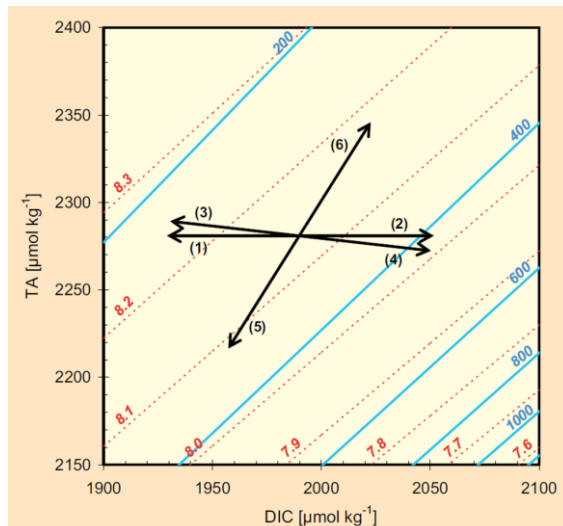


Abb.3

Veränderung des Parameterraums des Carbonatsystems im Seewasser durch wichtige biochemische Prozesse. pH (Rote Isoplethen) und $p\text{CO}_2$ (blaue Isoplethen in μatm) zeigen, dass bei Bekanntsein zweier Carbonatsystem-Parameter die anderen zwei berechnet werden können. Die Vektoren zeigen Systemveränderungen bei:

- (1) Abgabe von CO_2 an die Atmosphäre
- (2) Aufnahme von CO_2 aus der Atmosphäre
- (3) Primärproduktion
- (4) Respiration
- (5) Kalzifizierung
- (6) Kalklösung

Aus: Körtzinger (2010)

organischen Materials entzogen wird, wird dieser dennoch durch die globalen Umwälzungen der Wassermasse dem Kohlenstoffkreislauf nicht entzogen, es sei denn er wird Teil des Sedimentes.

Die mit der atmosphärischen Erwärmung einhergehende Oberflächenerwärmung ist als weiterer Faktor zu berücksichtigen. Die Auswirkungen auf organischen und anorganischen sowie globalen Kohlenstofftransport sind bisher unbekannt. In den Oberflächengewässern ist eine Abnahme der physikalischen CO_2 -Löslichkeit zu erwarten. Die Erwärmung führt zu einer höheren Stratifizierung der Dichteschichtung, welche vertikalen Transport in der Wassersäule behindern kann. Eine Erhöhung in der Geschwindigkeit physiologischer Reaktionen ist durch die Erwärmung zu erwarten, was sich besonders deutlich bei heterotrophen Organismen abzeichnen kann (Turley et al. 2010).

Ozeanversauerung ist ein Phänomen, das zwar global in Erscheinung tritt, jedoch regional in seiner Auswirkung auf die jeweiligen Ökosysteme mit anderen (anthropogenen) Faktoren einen sich gegenseitig verstärkenden, synergetischen Einfluss

hervorrufen kann. Beispielsweise zeigen Borges & Gypens (2010) an einem Modell, dass eutrophierende Einflüsse auf küstennahe, hochproduktive Oberflächengewässern die Effekte der Ozeanversauerung übertreffen bzw. aufheben können. Gleiches gilt für die Regulierung von Nährstoffeintrag durch Flüsse in den Ozean. Reduzierung der *Performance* als Produkt der Einflüsse von Ozeanerwärmung, -versauerung und -deoxygenierung wurden bei Pörtner & Farrell (2008) für verschiedenen Organismen gezeigt (z.B. für *Zoarcetes viviparus*).

2. DER EFFEKT VON OZEANVERSAUERUNG AUF KALZIFIZIERENDE ORGANISMEN

2.1 ANALYSIERBARKEIT UND PROGNOSEFÄHIGKEIT VON VERSAUERUNGSSTUDIEN

Generalisierte Aussagen über den Einfluss von Ozeanversauerung auf kalzifizierende Organismen lassen sich nur schwer treffen, selbst wenn die Untersuchung nur auf den Bereich der Kalzifizierungsfähigkeit beschränkt wird und andere Parameter – wie etwa Fraßverhalten, Fortpflanzung oder Metabolismus – außer Acht gelassen werden. Das liegt hauptsächlich daran, dass die Kalzifizierung bei verschiedenen Tiergruppen unterschiedlich manifestiert sein kann. Bei coccolithophoriden Mikroalgen beispielsweise erfolgt die Kalzifizierung intrazellulär, bei Korallen und Foraminiferen geschieht die Kalkbildung extrazellulär (Turley et al. 2010), entsprechend unterschiedlich sind auch die Effekte der Ozeanversauerung.

Es gilt bei der Beurteilung der Auswirkungen von Ozeanversauerung auf eine spezielle Art vor allem dem ontogenetisch schwächsten Punkt im Lebenszyklus der Art Beachtung zu schenken, da nicht nur Auswirkungen auf das Wachstumsverhalten verhältnismäßig robuster Adulttiere gefunden wurden, sondern vor allem auf das Wachstum von Sperma, Embryonen und Larven (Havenhand et al. 2008). Diese können aufgrund von weniger effektiven Ionen-Regulationssystemen deutlicher von Ozeanversauerung betroffen sein. Eier und Larven als potentielle Entwicklungsengpässe (*bottleneck life stages*) im Lebenszyklus von verschiedenen Arten sind dabei unterschiedlich gestaltet und damit auch unterschiedlich anfällig für Ozeanversauerung. Am Beispiel von *Ophiothrix fragilis* weisen Dupont & Thorndyke (2008) darauf hin, dass bei einer globalen Betrachtungsweise häufig von der Versauerung betroffene Schwachstellen in der Entwicklung der Tiere (Larvenstadien mit 100% Mortalität bei Versauerung um -0,2 pH-Stufen, Dupont et al. 2008) zu wenig berücksichtigt werden. Die gesamt beobachtete Effektstärke kann demnach vernachlässigbar erscheinen, obwohl die jeweilige Art deutlich durch die Versauerung beeinträchtigt werden kann. Zu beachten gilt nach Dupont et al. (2010b), dass auch eine geringfügige Verminderung der Population, die zunächst vernachlässigbar erscheinen mag (hier 1% Abnahme / Jahr), innerhalb von einem Jahrhundert zu einer nicht-tragfähigen Populationsgröße führen kann. Auch wenn der Großteil einer Population durch die Versauerung wenig bis nicht beeinflusst wird, kann somit das Scheitern weniger Tiere für kleine Populationen große Effekte bedeuten.

Da die Versuchsprotokolle bzw. -methoden bei verschiedenen Autoren deutlich abweichen und da die Reaktionen auf Kalzifizierung auch bei nah-verwandten Arten stark unterschiedlich sind, müssen die im Folgenden vorgestellten Meta-Analysen mit Rücksicht auf eventuell zu verallgemeinernde Aussagen interpretiert werden.

Meta-Analysen wurden von Autoren mehrfach genutzt, um zu zeigen, dass die Reaktion von Organismen auf Ozeanversauerung langfristig weniger Bedeutung für Ökosysteme haben kann als dies

in einzelnen Studien mitunter angenommen wird (Hendriks et al. 2010 ; Hendriks & Duarte 2010). Es wurde gezeigt, dass aufgrund des breiten Reaktionsspektrums bei allen Lebensphasen verschiedener Organismen kaum verallgemeinerbare Aussagen über den Effekt von Ozeanversauerung getroffen werden können, weswegen Hendriks & Duarte (2010) vor vorschnellen Negativ-Prognosen für die zukünftige Entwicklung der marinen Biodiversität (z.B. Dupont et al. 2010b) warnen. Hendriks & Duarte (2010) weisen etwa darauf hin, dass synergistische Effekte von weiteren veränderlichen Faktoren wie UV-Einstrahlung, Temperaturanstieg, Deoxygenierung, Überfischung und Eutrophierung auf der Gemeinschaftsebene zu anderen als den erwarteten Effekten führen können. Die Autoren argumentieren zusätzlich, dass selbst bei einer beobachteten Abnahme der Kalzifizierung um 25% (Korallen und Pteropoden) in Versauerungsexperimenten die Abnahme pro Jahr bis zum Ende dieses Jahrhunderts so gering wäre, dass selektive Adaptationsprozesse den Tieren zu einer höheren Performance als der erwarteten verhelfen könnten.

Da sich die unten dargestellten Ergebnisse ausschließlich auf die Auswirkungen von Seewasserversauerung auf *Asterias rubens* beziehen, wird in dieser Arbeit primär auf die Meta-Analysen von Dupont et al. Bezug genommen, da hier Echinodermata eine bedeutende bis ausschließliche Rolle einnehmen, was in den anderen vorgestellten Meta-Analysen nicht oder nur in geringem Umfang der Fall ist.

2.2 HINWEISE AUF VERSAUERUNGSEFFEKTE DURCH PALÄONTOLOGISCHE STUDIEN

Hautmann et al. (2008) beschreiben den Zusammenhang zwischen dem Massensterben an der Grenze zwischen Trias und Jura (vor ca. 200 mio. Jahren) und dem zu dieser Zeit weltweit synchron in Gesteinsschichten fehlenden Kalkanteil. Aufgrund von Blattfossilien (und über deren Stomatadichte) werden die damaligen atmosphärischen $p\text{CO}_2$ -Werte auf mindestens 600 ppm beziffert (ausgelöst durch vulkanische Eruptionen und das Ausgasen mariner Gashydrate). Eine deutlich geringere Populationsdichte und Ausbreitung wurde besonders bei Schwämmen und Korallen nachgewiesen (bis zu 96% Verlust der ursprünglichen Biomasse). Weniger oder nicht-kalzifizierende Tiergruppen wurden durch die erhöhten CO_2 -Werte zu dieser Zeit weniger reduziert (Abnahmen der Biomasse um 4,5-13,6% - Hautmann et al. 2008). Gleichzeitig konnte an Fossilien auch gezeigt werden, dass sich die Gesamtzahl an Wirbeltieren weniger reduzierte. Durch den Vergleich physiologisch ähnlicher aber unterschiedlich stark kalzifizierter Organismen wurde deutlich, dass andere Faktoren (Schwefel in der Atmosphäre) keinen Einfluss auf das beobachtete Massensterben hatten. Tiere mit einem hohen Anteil an Aragonit bzw. hoch-magnesiumhaltigen Kalzit waren eher anfällig für die erhöhten $p\text{CO}_2$ -Werte als Tiere mit einem nieder-magnesiumhaltigen Kalzit-Skelett.

Die Beobachtungen von Hautmann et al. (2008) weisen Ähnlichkeiten mit den heute beobachteten Änderungen durch Ozeanversauerung auf (Kroeker et al. 2010). Es ist zu beachten, dass mit Hilfe von paläontologischen Untersuchungen aufgrund der heute unterschiedlichen klimatischen Bedingungen

und aufgrund der evolutiven Veränderung von Tieren und Pflanzen keine Prognosen für die Effekte der heutigen Ozeanversauerung getroffen werden können, sondern dass durch diese Disziplin nur Anhaltspunkte für eine mögliche Entwicklung gegeben werden können, durch die sich gefundene Trends bestätigen lassen.

2.3 KALZIFIZIERUNGSPROBLEME BEI SINKENDEM SEEWASSER PH

Die physikalische Bildung von Kalk oder dessen Auflösung in Ionen ist vom Sättigungsgrad der Ionen im Wasser abhängig (Ω), welcher wiederum von Temperatur, Salzgehalt, Druck und den speziellen mineralischen Phasen des Kalkes (Aragonit bzw. Kalzit) abhängt. Aragonit und hochmagnesiumhaltiges Kalzit sind dabei ca. 50% mehr löslich als reines Kalzit. Kalzifizierung (also Skelettaufbau) ist physikalisch ab $\Omega > 1,0$ möglich. Darunter wird Kalk, der nicht durch Organik geschützt ist, aufgelöst. Der Wert von $\Omega=1$ als Schwellenwert für die Kalzifizierung weicht allerdings im Leben vieler Organismen deutlich von 1 ab und ist zum Beispiel von der Ionenregulationsfähigkeit der Tiere oder einer schützenden Proteinschicht über den kalzifizierten Strukturen abhängig (**Einleitung 2.4**). Aktuell liegt der durchschnittliche Sättigungsgrad in Oberflächenwasser bei etwa $\Omega=4,5$ für Kalzit und bei $\Omega=3$ für Aragonit (Turley et al. 2010 ; vergleiche **Abb.2**). Sättigungsgrade sind in warmen, flachen und tropischen Gebieten am höchsten (Korallenvorkommen). Die Löslichkeit von CaCO_3 nimmt mit steigendem Druck (Tiefe), sinkender Temperatur und damit mit höherem Breitengrad zu.

Feely et al. (2004) beschreiben das mit der Ozeanversauerung einhergehende Aufsteigen der Sättigungshorizonte beider Kristallformen von Kalk im Vergleich zur vorindustriellen Zeit. Kalklösende Bedingungen werden somit bereits bei geringeren Tiefen erreicht. Bei Verhältnissen im Oberflächenwasser von 1200-1700 μatm wird Aragonit gelöst, Kalzit bei Verhältnissen zwischen 1900-2800 μatm (Hautmann et al. 2008). Das ist beispielsweise wichtig für aragonitbildende Kaltwasser-Korallen in der Tiefsee, die noch in diesem Jahrhundert von untersättigten Aragonitwerten betroffen sein werden (Guinotte et al. 2006). Projektionen zu den jeweiligen Sättigungszuständen der Oberflächen werden in **Abb.2d** gezeigt. Die Lösungshorizonte für Kalk-Mineralien liegen dabei im Pazifik deutlich flacher als im Atlantik (Kalksedimente). In besonders betroffenen Regionen, wie etwa den arktischen Ozeanen, werden zumindest saisonale Lösungsverhältnisse für Kalzit und Aragonit Mitte dieses Jahrhunderts erwartet (Turley et al. 2010). Die großen saisonalen Schwankungen können dabei durch die Aufnahme von CO_2 während Phytoplanktonblüten oder die Kombination aus Atmung in tieferen Wasserschichten und Upwellingprozessen an Kontinentalrändern bedingt sein.

Die die Kalzifizierungsfähigkeit der Tiere bestimmenden physiologischen Parameter werden unter 2.5 beschrieben.

2.4 ÖKOLOGISCHE BEDEUTUNG

In Meta-Analysen wird deutlich, wie breitgefächert die Reaktionen auf Ozeanversauerung sind (**Abb.4**). Es bestätigt sich beispielsweise der Trend, dass (mit Ausnahme von Crustaceen und Sepien – Melzner et al. 2009a ; Gutowska et al. 2010b) kalzifizierende Organismen meist mehr durch Ozeanversauerung betroffen werden als nicht-kalzifizierende Organismen. Tiere mit hochlösliche Kristallformen sind mehr anfällig als Tiere mit weniger löslichen Kristallformen (Kroeker et al. 2010). Die letztgenannten Autoren fanden in 73 Studien (251 Experimente) signifikante Änderungen in der Überlebensquote, Kalzifizierung, Wachstum und Fortpflanzung verschiedener Arten. Durch die große Variabilität zwischen Arten wurden aber beispielsweise für Echinodermaten für keinen der Parameter signifikanten Änderungen festgestellt, obwohl dies an anderer Stelle für einzelne Arten gezeigt werden konnte (Dupont et al. 2010a ; Havenhand et al. 2008 ; Wood et al. 2008; Kurihara 2008).

Ries et al. (2010) zeigen an 18 Arten (hier ein direkter experimenteller Vergleich) wie sich die Kalzifizierung der Tiere bei einer Verzehnfachung vorindustrieller $p\text{CO}_2$ -Werte im Meer verändert (**Abb.4**). Bei 10 Arten nahm die Netto-Kalzifizierung ab (bei 6 davon wurden Schalenauflösungen beobachtet). Bei 4 Arten nahm die Kalzifizierung mit steigenden $p\text{CO}_2$ -Werten zunächst zu um dann bei hohen Bedingungen wieder abzunehmen. Bei 3 Arten (Crustaceen) konnte bei Versauerung eine stetige Zunahme der Kalzifizierung beobachtet werden, bei einer Art wurden keine deutlichen Trends beobachtet.

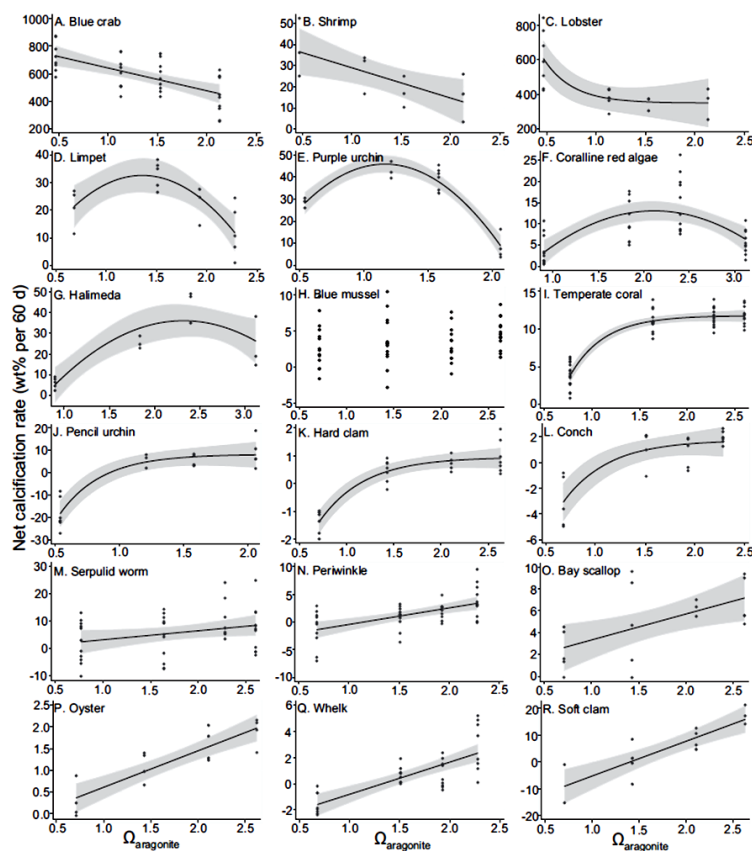


Abb.4

Reaktion der Kalzifizierung von 18 Arten auf ein 60-tägiges Versauerungsexperiment. Die Netto-Kalzifizierungsraten (also pro 60 Tage) wurden über die Auftriebsfähigkeit nach dem archimedischen Prinzip bestimmt. Graue Bereiche neben den Kurven/Geraden zeigen 95%-Konfidenzintervalle an.

Aus: Ries et al. (2010)

Davon ausgehend, dass kalzifizierte Strukturen für Tiere mit Kalkskelett einen ökologischen Vorteil darstellen, bedeutet das, dass Hyperkapnie-anfälligere Tiere auf die veränderlichen CO₂-Bedingungen mit einer Anpassung ihrer geographischen Verbreitung in Richtung annehmbarer Bedingungen der Seewasserchemie reagieren (Doney et al. 2009). Geringfügigere Effekte als die direkte Messung der Kalzifizierungsänderung bei hohem $p\text{CO}_2$ werden auf der Gemeinschaftsebene schwieriger zu detektieren sein. Eine Reduktion der Fähigkeit mit nicht-kalzifizierenden Organismen zu konkurrieren, Veränderungen der sexuellen Fortpflanzungserfolgs durch reduziertes Reifealter oder eine Änderung der Dichte und damit der Absinkgeschwindigkeit bzw. der Licht-Reaktionen von Organismen wurde von Doney et al. (2009) alleine als mögliche Effekte einer verminderten Kalzifizierung vermutet. Kombinierte Stressoreffekte sowie amplifizierende Wirkungen über mehrere Generationen tragen weiterhin dazu bei, eine Aussage über die ökologische Auswirkung von Ozeanversauerung nur schwer finden zu können (Doney et al. 2010). Als Beispiel für eine Anpassung der Verbreitung zeigen Helmuth et al. (2006), dass in Gebieten in denen nördliche und südliche Artenpaare eine ähnliche ökologische Nische besetzen die Verschiebung des Abundanz-Verhältnisses zum Vorteil der südlicheren Art führt. Als sich dabei häufig ändernder Parameter wird die Verschiebung der nördlichen Ausbreitungsgrenze Richtung Norden genutzt, so etwa bei *Mytilus edulis* um 500 km von Norwegen nach Spitzbergen oder bei *Echinooetorina peruvina* in Chile um 5° nach Nord. Harris et al. (1998) analysierten die Abundanzen von *Asterias forbesi* und *Asterias vulgaris* im Golf von Maine und fanden durch steigende Temperaturen bedingte Zunahmen der Populationsdichte beim Warmwasser-Seestern *A. forbesi* und Abnahmen beim Kaltwasser-Seestern *A. vulgaris*. Zwei ähnliche Arten können somit bei gleichen Veränderungen des Lebensraumes unterschiedliche Reaktionen zeigen. Abundanzänderungen, die auf einfache Weise entlang einer einparametrischen Veränderung der Umweltbedingungen korrelieren, können somit nur selten erwartet werden (Helmuth et al. 2006).

Ökologisch bedeutend wäre auch eine Änderung des Kohlenstoffkreislaufes. Es stehen dabei teilweise Änderungen in der Seewasserspezifikation (z.B. durch stärkere vertikale Stratifizierung) Änderungen der Primärproduktion gegenüber. Erhöhte C/N-Verhältnisse bei Primärproduzenten könnte beispielsweise den Export des Phytoplanktons in größere Tiefen beschleunigen oder eine Verschlechterung der Nahrungsqualität für höhere Tiere darstellen und somit marine Nahrungsnetze von der Basis ausgehend verändern (Doney et al. 2009 ; Potera 2010). Eine Änderung der Verfügbarkeit von Spurenelementen für Primärproduzenten durch eine Temperatur- oder pH-Änderungen wird ebenfalls für eine mögliche Folge der Seewasserversauerung gehalten. Betroffen sein können beispielsweise die Elemente Eisen, Aluminium und Chrom (Doney et al. 2009). Prognosen über die ökologische Bedeutsamkeit dieser Änderungen für Ökosysteme sind bisher nicht genau möglich.

2.5 PHYSIOLOGISCHE EFFEKTE

Die physiologischen Antworten auf Ozeanversauerung sind stark variabel, häufig sogar innerhalb gleicher Gruppen (beispielsweise bei Coccolithophoriden, zusammengefasst bei Fabry 2008). Es besteht ein wichtiger Unterschied zwischen einzelligen Tieren, deren extrazellulärer Raum durch das Meereswasser ausgemacht wird (400 $\mu\text{atm CO}_2$) und zwischen Metazoen (ektotherme Vertebraten wie Teleostei), in deren extrazellulären Körperflüssigkeiten bereits Verhältnissen von 1000-3900 μatm messbar sind, wenn die Tiere in normokapnischen Seewasser leben. Diese Tiere könnten dabei durch die ohnehin schon saureren Verhältnisse besser an den prognostizierten Wandel angepasst sein (Melnzer et al. 2009a). Den Argumenten für eine höhere Belastung von einzelligen Lebewesen durch Versauerung ist entgegen zu halten, dass Einzeller aufgrund ihrer schnellen Reproduktionszyklen deutlich mehr Generationen zur Selektion vorteilhafter Genotypen zur Verfügung haben als langlebigere, höhere Tiere (Melnzer et al. 2009a).

Für Gameten gelten grundsätzlich die gleichen Überlegungen wie beim Vergleich der Resilienz gegenüber Seewasserversauerung von einzelligen und vielzelligen Organismen. Bei der Betrachtung von Eiern als potentiell Entwicklungsempfindlich wird angenommen, dass Fischeier und Cephalopodeneiern im Gegensatz zu anderen Tiergruppen eine hohe Resilienz gegenüber Versauerung besitzen. Denn diese Gameten sind innerhalb ihrer gut nach Außen abgeschirmten Eikapseln auch bei normokapnischen Seewasserbedingungen durch ihre Atmung von CO_2 -Konzentrationen betroffen, die über den erwarteten Werten für die Ozeanversauerung liegen (Melnzer et al. 2009a). Das kann dennoch bedeuten, dass der CO_2 -Partialdruck im Rahmen der Ozeanversauerung in den Eiern auf ein noch höheres Niveau ansteigt und die Tiere durch Versauerung betroffen werden.

Bei Tieren, die ihre Gameten direkt ins Meer entlassen (wie *Asterias rubens*), sind die Eier oder Spermien mehr von einem gleichem Versauerungsanstieg betroffen als z.B. Fischeier, da letztere über eine abschirmende feste Kapsel verfügen (Melnzer et al. 2009a). Larven von Tieren mit kurzer Wachstumsdauer im Ei (z. B. Echinodermaten) sind länger den gesteigerten CO_2 -Werten im Meer ausgesetzt und damit eventuell anfälliger als Tiere mit längerer Wachstumsphase im Ei. Reduktionen der Spermamobilität und Verringerungen des Befruchtungserfolgs bei Echinodermaten konnten von Havenhand et al. (2008), Kurihara (2008) und Dupont et al. (2008) gezeigt werden. Letztere fanden beispielsweise eine 100%ige Mortalität bei *Ophiotrix fragilis*-Larven nach 8 Tagen bei um 0,2 gesenkten pH-Werten – gegenteilige Beobachtungen konnten für *Strongylocentrotus droebachiensis* gemacht werden (Dupont & Thorndyke 2009). In einigen Fällen wurden negative Effekte der Ozeanversauerung auf Larven nur in Verbindung mit erhöhten Temperaturen beobachtet (Byrne und Davis 2008).

Eine Übersicht über die Auswirkungen von Ozeanversauerung auf Echinodermaten-Larven von 17 Arten findet sich bei Dupont & Thorndyke (2009). Eine pH-Reduzierung um etwa 0,4 Einheiten führt bei etwa der Hälfte der untersuchten Arten zu einer Reduzierung der Überlebensrate (also pro

festgelegte Zeitspanne) der Larven. Bei allen Arten wurde eine Verminderung der Entwicklungsdynamik und -geschwindigkeit beobachtet.

Bei luftatmenden Tieren kann ein erhöhter Gehalt von CO_2 in der extrazellulären Flüssigkeit durch erhöhte Atmung wettgemacht werden. Bei wasseratmenden Tieren ist der CO_2 -Gehalt in Körperflüssigkeiten deutlich geringer, sodass ein Austausch durch gesteigerte Atmung nicht möglich ist. Zur Kompensation werden (neben der Pufferfunktion des Carbonatsystems an sich) verschiedene nicht-bicarbonate Pufferungsstrategien angewandt.

Starke Veränderlichkeit des extrazellulären pHs (pH_e) mit zunehmend versauerten Seewasserbedingungen kann als Annäherung genutzt werden, um eine Art gegenüber Ozeanversauerung als potentiell anfällig einzustufen (Melnzer et al. 2009a). Als erste Verteidigungsstufe der nicht-bicarbonaten Pufferung gegen den Abfall des pH_e ist die Bindung von freien Protonen an Aminosäuren-Seitenketten zu sehen. Eine effizientere Regulationsmöglichkeit ist dagegen die aktive Anreicherung von HCO_3^- im Extrazellularraum. Bei Echinodermaten (oder Muscheln) ist im Gegensatz zu z.B. *Carcinus maenas* oder *Sepia officinalis* ein aktives Pufferungssystem nicht realisiert (Melnzer et al. 2009a). Ein Abfall des extrazellulären pHs geht bei *Asterias rubens* ohne sichtliche Veränderung des extrazellulären Gehaltes an HCO_3^- vonstatten, wobei der pH_e mit steigender Versauerung stetig fällt (Abb.5). Ähnliche Ergebnisse zur pH_e -Regulation wurden von Collard et al. (2011) gefunden.

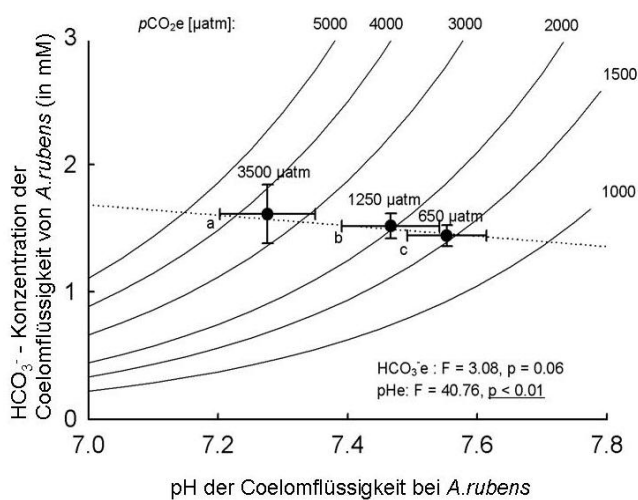


Abb.5

Davenport-Diagramm der Coelomflüssigkeit von *A. rubens* bei drei pCO_2 -Behandlungen. Vertikale und horizontale Balken stellen Standardabweichungen dar. Isoplethen stellen gleiche pCO_2 -Verhältnisse dar. Ergebnisse mit unterschiedlichen Buchstaben sind statistisch signifikant unterschiedlich in pH und HCO_3^- -Verhältnissen der Coelomflüssigkeit.

Die gepunktete Linie entspricht der nicht-bicarbonaten Pufferung.

Aus: Appelhans et al. (eingereicht 2011)
[abgewandelt]

In Epithelzellen (hauptsächlich in Kiemen, Nieren und im Verdauungstrakt [Pörtner et al. 2004]) findet ein Großteil der Regulation der Ionen- bzw. Säure-Base Verhältnisse statt. Es kann die Aktivität der basolateralen Na^+/K^+ -ATPase als Maß für die Fähigkeit der pH_e -Regulation gewertet werden. Die resultierende Abnahme der internen Na^+ -Konzentration liefert die (energetische) Grundlage für einen H^+/Na^+ Austausch, der wiederum durch das Ausscheiden von H^+ zu einer Absenkung des intrazellulären pHs führt. Die Protonen entstehen bei versauerten Bedingungen durch die zusätzliche Hydrierung von CO_2 durch cytoplasmatische α -Carboanhydrasen. Das dabei entstehende HCO_3^- kann aktiv durch einen $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Tauscher oder $\text{HCO}_3^-/\text{Na}^+$ -Cotransporter aus den Epithelzellen in die

Extrazellulärflüssigkeit geschafft werden, die dadurch zusätzliche Pufferung erfährt (Melnzer et al. 2009a).

Bei sessilen, hypometabolischen Tieren (Muscheln, Seesterne – eher Hyperkapnie-intolerant) ist diese Aktivitätsrate der Na^+/K^+ -ATPase etwa im Verhältnis von 10:1 kleiner als bei Hyperkapnie-toleranteren (aktiven) Arten. Diese Tiere können die Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase den externen Versauerungsbedingungen anpassen (Melnzer et al. 2009b).

Im Kontext der Ozeanversauerung muss auch die Pufferung des intrazellulären pHs (pH_i) in Betracht gezogen werden. Der pH_i wird im Gegensatz zum pH_e (bei gesteigerten energetischen Kosten) in allen bekannten Fällen konstant gehalten (Boron 2004). Es kommen dabei ähnliche Mechanismen wie bei der Ionen-Regulation an Epithelien (s.o.) zum Einsatz, zum Beispiel v-Typ H^+ -ATPasen, Na^+/H^+ -Tauscher, Na^+ gesteuerte $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Tauscher (alles Säure-Exkretierer) oder Na^+/H^+ bzw. $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Tauscher (alles Säure-Importierer) (Boron 2004 ; Pörtner et al. 2004). Boron (2004) weist darauf hin, dass eine pauschalisierte Aussage über die Reaktion von Zellen auf Ozeanversauerung aufgrund der vielfältig gestalteten Exkretionssysteme in verschiedenen Zelltypen und Tieren nur schwer möglich ist. Die Menge verschiedener Pufferungssysteme ist insofern hilfreich, als dass jedes System einen eigenen pH-Optimumswert besitzt – eine Reihe von Systemen kann also ein breites pH-Spektrum puffern, ohne in der Leistungsfähigkeit Einbrüche zu erfahren (Boron 2004).

Durch niedrigere extrazelluläre pH-Werte wird die Pufferungsfähigkeit des pH_i s verlangsamt – eine Wiederherstellung der Ursprungswerte bei Versauerung dauert bei niedrigen pH_e s deutlich länger (Pörtner et al. 2004 [*Sipunculus nudus*]). Die Regulation des pH_i s kann bei veränderlichen Außenbedingungen für die betroffenen Tiere energetisch weitreichende Folgen haben: Wood et al. (2002) zeigen, dass die pH_i -Regulation in Extremfällen bis zu 50% der Energie des Basismetabolismus-Energiebedarfs in Anspruch nimmt.

Effektive Transportsysteme für Ionen stellen bei Metazoen somit eine wichtige Grundlage der Säure-Base-Regulation dar, um das pH-Milieu im extrazellulären Raum konstant zu halten bzw. um die Kalzifizierung durch Anhebung des pHs um bis zu 2 Einheiten (Al-Horani et al. 2003) am Ort der Kalzifizierung zu erleichtern. Tiere, die sich auch bei hohen $p\text{CO}_2$ -Werten im Meer durch die Fähigkeit auszeichnen, ihren pH_e effizient zu regulieren, zeigen somit meist geringere Anfälligkeit für versauerte Außenbedingungen bezogen auf ihre Kalzifizierungsfähigkeit.

Tiere mit höherer Metabolismusrate (bzw. größeren Schwankungen selbiger) und größerer Aktivität sind eher in der Lage große Mengen an Säure auszuscheiden, da sie bei erhöhter Atmung auch proportional mehr CO_2 aus ihrem System transportieren müssen (Melnzer et al. 2009a). Der gleiche Effekt kann bei diesen Tieren durch eine Anreicherung von Bicarbonationen im Extrazellularraum erzielt werden. Im Gegensatz dazu weisen z. B. Stachelhäuter geringe Metabolismusraten und einen geringeren $p\text{CO}_2$ -Druck im Extrazellularraum auf. Diffusion zum äußeren Seewasser ist somit

proportional deutlich schwieriger bzw. langwieriger als bei Tieren mit hohem extrazellulären $p\text{CO}_2$. Echinodermaten sind somit auch unter diesem Gesichtspunkt als eher durch Versauerung betroffen einzustufen (Melnzer et al. 2009b).

Das Vorhandensein respiratorischer Pigmente (nicht vorhanden bei Echinodermaten) ist für eine effiziente Sauerstoffversorgung nötig. Diese ermöglichen Tieren eine aktive Lebensweise und hohe Atmungsraten, sind jedoch anfällig für die Änderung des extrazellulären pHs (Melnzer et al. 2009b).

Neben der Metabolismusrate und der Fähigkeit den pH-Wert des Körpers effizient zu regulieren ist auch die Dicke und Struktur der organischen Schutzschicht um die Kalkgebilde wichtig, damit ein Organismus Seewasserversauerung eher tolerieren kann. Dass meist größere Resilienz mit einer ausgeprägteren Schutzschicht einhergeht zeigen Ries et al. (2010). *A. rubens* verfügt über ein Endoskelett, wobei selbst die Stacheln mit einer dünnen organischen Schicht überzogen sind, sodass die Kalkelemente nirgends direkt mit dem Seewasser in Kontakt stehen.

3. DAS UNTERSUCHUNGSGEBIET DER KIELER FÖRDE

Die Kieler Förde als Teil der westlichen Ostsee ist charakterisiert durch geringe Salinität (10-20) und verhältnismäßig geringe Alkalitätswerte ($AT=1850-2150 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$). Die Sättigungsgrade für Ω_{Aragonit} und Ω_{Kalzit} liegen deutlich niedriger als im offenen Ozean ($\Omega_{\text{Aragonit}} = 1-4$ und $\Omega_{\text{Kalzit}} = 2-6$). In 2009 wurden von Sommer bis Herbst keine Werte über 1 für Ω_{Aragonit} gemessen und auch Ω_{Kalzit} erreichte häufig Werten von unter 1 (Thomsen et al. 2010).

Ausgelöst werden diese niedrigen Sättigungszustände durch das Auftreiben CO_2 -reicher Wassermassen aus größerer Tiefe (Hansen et al. 1999). Bei großen Schwankungen innerhalb des Jahres (**Abb.6**) erreicht die Kieler Förde im Oberflächenwasser $p\text{CO}_2$ -Gehalte von 375-2309 μatm . Ca. 1/3 des Jahres liegen diese Werte um ein dreifaches höher als in der vorindustriellen Zeit (Thomsen et al. 2010). Die korrespondierenden pH-Werte liegen bei 7,49 bis 8,23 (NBS-Skala). Die Kieler Förde ist somit durch ihre natürlich versauerten Bedingungen ein Modell für ein zukünftig versauertes Meer und verfügt heute teilweise über ein Carbonatsystem, wie sie für den offenen Ozean in den nächsten 300 Jahren nicht erwartet wird. Bei einer voraussichtlichen Verdopplung der atmosphärischen $p\text{CO}_2$ -Werte bis zum Jahr 2100 ist in der Förde in Zeiten starker Upwellingprozesse mit Verhältnissen von bis zu 4000 μatm $p\text{CO}_2$ zu rechnen (Thomsen et al. 2010).

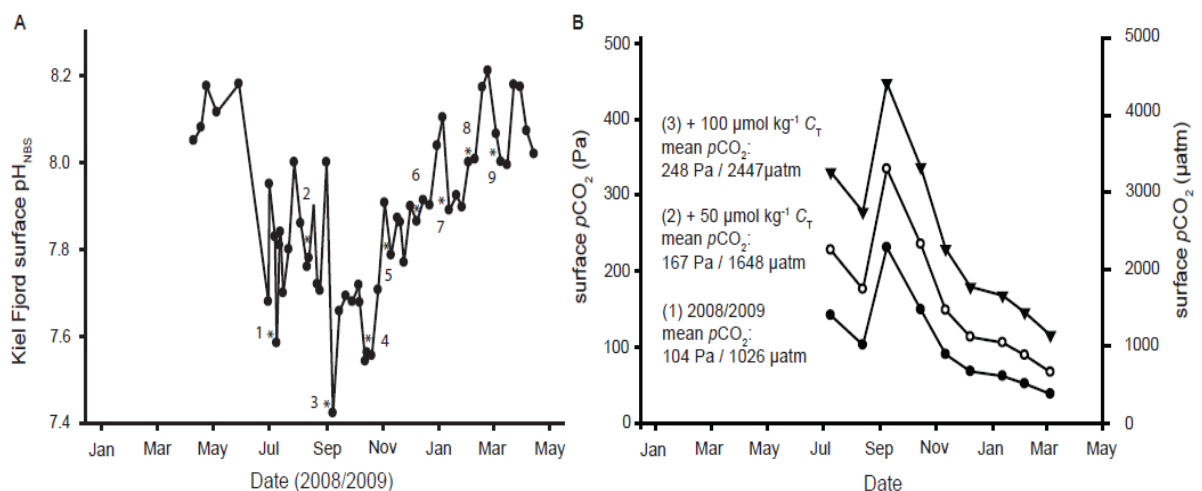


Abb.6

A Jahreszeitliche Schwankungen des Oberflächen pHs (NBS-Skala) in der Kieler Förde ($54^{\circ}19.8' \text{ N}$; $10^{\circ}9.0' \text{ O}$). Der Ort der Messungen ist etwa 100m entfernt von der Sammelstelle der Seesterne für das unten beschriebene Experiment. (*) und Nummern zeigen akkurate Wasserproben (TA & DIC-Bestimmung) an, anhand derer Grafik B erstellt wurde.

B Jahreszeitlicher Verlauf des Oberflächen $p\text{CO}_2$ s – gemessene Werte für 2008/2009 und prognostizierte Werte für eine Erhöhung des CT um $50 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ und um $100 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Szenario für 2100 bei einer Verdoppelung des atmosphärischen CO_2 -Gehaltes).

Aus: Thomsen (2010)

Omstedt et al. (2010) zeigen in einer Studie über die Säure-Base Verhältnisse in der Ostsee, dass die jährlichen Schwankungen des Oberflächen-pHs großflächig mehr als 0,5 betragen und durch die

Menge der durch Flüsse eingetragenen Nährstoffe mitbestimmt werden. Omstedt et al. (2010) warnen vor speziellen Prognosen für die Versauerung der Ostsee, da verlässliche Daten noch nicht für einen ausreichend langen Zeitraum vorliegen. Es wird gezeigt, dass der prognostizierte Klimawandel weder durch erhöhte Temperatur noch durch veränderliche Salinität bzw. veränderte Niederschläge bedeutende Auswirkungen auf den Oberflächen pH hat. Im Gegensatz dazu stehen anthropogene CO_2 -Einträge und die damit in limnischen Systemen (annähernd in der nordöstlicher Ostsee) hoch korrelierenden Flusseinträge an gelöstem organischen Material (*Dissolved organic matter=DOC*) und dessen Mineralisierung. Eine Kombination von verringerten Alkalitäten durch Flusseinträge und erhöhten $p\text{CO}_2$ -Bedingungen durch anthropogene Einflüsse kann zu bedeutenden pH-Senkungen im Oberflächenwasser führen. Regionen mit geringerer Alkalität (nord-östliche Ostsee) sind somit deutlich mehr von Ozeanversauerung betroffen als Regionen mit hoher Alkalität (z.B. Kattegatt). Die Ostsee fungiert, in Abhängigkeit von der (durch die Alkalität bestimmten) Lösung von Sandstein und der damit einhergehenden Vermehrung von Carbonationen im Wasser, sowohl als Quelle als auch als Senke für atmosphärisches CO_2 . Dass eine Abhängigkeit des $p\text{CO}_2$ in küstennahen Gewässern mehr von den Einflussraten von Carbonationen aus Flüssen beziehungsweise deren Mineralisierung abhängt als von anthropogenen Einträgen, deckt sich mit den Ergebnissen von Borges und Gypens (2010), die modellhaft zeigen, dass die Einflüsse von Eutrophierung größer sein können, als die der Ozeanversauerung.

4. DIE UNTERSUCHTE ART *ASTERIAS RUBENS*

4.1 *ASTERIAS RUBENS* IN DER OSTSEE

A. rubens ist in der Kieler Förde der einzige Seestern und mit dem Schlangensterne *Ophiura albida* (sehr selten) der einzige Stachelhäuter (Nauen 1978). Die Tiere sind die euryhalinsten Seesterne in der Ostsee: Salinitäten von 10-20 liegen noch im Toleranzspektrum der Art, wobei auch hier die untere Schwelle der Toleranz erreicht ist (Nauen 1978: Normale Reproduktion bis 15 psu; Temperaturtoleranzgrenze bei 25 Grad). Die nicht-osmoregulierenden Tiere sind dabei in der Ostsee mit kurzzeitigen Toleranzschwellen von 8 psu deutlich an die verringerte Salinität angepasst, für Nordseetiere liegt die Toleranzschwelle mit 23 psu bei deutlich höheren Werten. (Binyon 1961). Da bei einem mittleren Salzgehalt von 15 psu bereits Larven nicht mehr die ursprüngliche Größe erreichen und auch adulte Tiere verringerte Größe und Aktivität zeigen (Kowalski 1955), kann davon ausgegangen werden, dass Salinitätsschwankungen für die *A. rubens* einen bedeutenden Stressfaktor darstellen. Durch weitere Stressfaktoren, wie langfristig erhöhte Temperaturen oder verringerte pH-Werte, könnte ein Stresslevel in der Förde überschritten werden, das für die Tiere einen kritischen Belastungswert darstellt.

A. rubens ist mit durchschnittlich 32.000 Tonnen Biomasse essentieller Bestandteil des Ökosystems der Kieler Förde (etwa 12% der Biomasse der Invertebraten - Nauen 1978) und der einzige Prädatator, der in nennenswertem Umfang in der Lage ist, die überall vorhandenen Bestände von Mollusken (z.B. *Abra Alba* und *Mytilus edulis*) zu dezimieren. Die Dichte der Tiere ist jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen (Biomasse in der Kieler Förde: 11.000-54.000 Tonnen) und vom Substrat abhängig, auf dem die jeweiligen Tiere leben. Nauen (1978) berechnet auf verschiedenem Wege, dass *A. rubens* pro Jahr etwa 90.000-120.000 Tonnen Makrobenthos-Invertebraten konsumiert. Das entspricht nach Arntz (1971) für *Abra Alba* (2/3 der Nahrungsgrundlage der Seesterne) etwa der Hälfte der Biomasse dieser Muscheln in der Kieler Förde.

Als Beutetiere werden neben *A. Alba* und *M. edulis* von Jungtieren auch *Hydrobia ulvae* und bei größeren Tieren *Mocoma baltica*, sessile Polychaeten und Crustaceen gewählt (Kellermann 1981).

Zwischen Ende Mai bis Mitte Juni (Kowalski 1955) findet die Laichperiode von *A. rubens* in der Kieler Förde statt, an die sich eine planktonische Larvenphase mit Bipinnaria (ca. 5 Wochen; Ernährung über Diatomeen/Kleinplankton) und (meist) Brachiolaria-Larve anschließt (ca. 2-4 Wochen). Variationen der Dauer der Larvenstadien sind durch Umweltfaktoren (vor allem durch Temperatur) bedingt (Nauen 1978) und somit wichtiger Gegenstand zukünftiger Forschung. Da kleine Tiere das ganze Jahr über im Makrobenthos vorkommen, geht Nauen (1978) davon aus, dass eine bis zu fast einem Jahr andauernde Wartephase auf die Larvenphase (nach der Metamorphose) folgen kann. Diese Strategie hilft *A. rubens*, den Lebensraum nicht nur räumlich durch die Verbreitung im Larvenstadium zu erschließen, sondern auch zeitliche Ressourcen optimal zu nutzen, indem die Art

auf ausreichend freie Kapazitäten und passende Umweltbedingungen des Habitats für die Wachstumsphase wartet. Einer der Gründe warum *A. rubens* im Bereich der Kieler Förde erfolgreich ist, kann in der opportunistischen Lebensweise als Antwort auf stark veränderliche Umweltbedingungen gesehen werden. Die daraus resultierenden Schwankungen der Biomasse sind sowohl innerhalb eines – wie auch zwischen mehreren Jahren sichtbar. So wurden zur Zeit des unten beschriebenen Versuches (10/2010) deutlich weniger Tiere an gleicher Stelle vorgefunden als noch ein Jahr zuvor.

A. rubens wird in nur geringem Maße von Möwen, *Carcinus maenas* oder Dorschen gefressen, Kannibalismus kommt ebenfalls selten vor (Nauen 1978). Die Bestände von *A. rubens* werden sonst nur nennenswert von überwinternden Eiderenten (*Somateria mollissima*) als Futter genutzt, wobei deren Nahrung zu ca. 25% über *A. rubens* gedeckt wird, was bei 100.000 Enten etwa 300 t/Jahr entspricht (Nauen 1979).

4.2 EFFEKTE VON UMWELTSTRESS

Während beispielsweise Gooding et al. (2008) für *Pisaster ochraceus* erhöhtes Wachstum und erhöhte Fraßraten bei verdoppelten $p\text{CO}_2$ Verhältnissen (380ppm \rightarrow 780ppm) und erhöhten Temperaturen (von 12°C \rightarrow 15°C) fanden, konnten in den meisten Forschungsergebnisse als Reaktionen von Seesternen auf Ozeanversauerung (bzw. auch Wassererwärmung) nur abnehmende Trends festgestellt werden (Dupont et al. 2010a).

Wood et al. (2010b) weisen am Sediment-bewohnenden Schlangensterne *Amphiura filiformis* darauf hin, dass Ozeanversauerung zu einer gesteigerten Arm-Regenerationsfähigkeit führen kann, wobei auf die gesenkten pH-Verhältnisse mit einer Steigerungen der Respirations- bzw. Atmungsraten reagiert wird. Die Autoren zeigen, dass ein Effekt, der oberflächlich eine Steigerung der *Performance* eines Tieres bedeutet bei näherer Betrachtung negative Aspekte aufweisen kann. In diesem Fall zeigte sich, dass mit gesteigerter Armgeneration Muskelschwund (auch in etablierten Armen) einhergeht, was nicht nur die Bewegungsfähigkeit und Ventilationsfähigkeit des Schlangensterne beeinflusst, sondern auch dessen Fähigkeit seine Gameten am Meeresboden und nicht schon im Bau zu entlassen. Reaktionen auf Ozeanversauerung können somit zwar zu einem gewissen Grad die veränderlichen Umweltbedingungen kompensieren, allerdings können durch den damit einhergehend gesteigerten Energiebedarf negative Auswirkungen auf vitale Funktionen des betroffenen Tieres ausgelöst werden.

Dupont et al. (2010b) weisen in einer Meta-Analyse über die Anfälligkeit von Echinodermaten für Versauerung (bis -0,4 pH Stufen; $p\text{CO}_2=700 \mu\text{atm}$) eine gemittelte Robustheit von Echinodermaten nach, wobei es je nach Lebensstadium deutliche Unterschiede zu beobachten gibt. In dieser Studie entsprechen 28 von 53 untersuchten Reaktionen von Lebensstadien verschiedener Arten einem abnehmenden Effekt. Bei 8 von 14 untersuchten Echinodermaten-Artikeln finden Dupont et al.

(2010b) einen subletal-negativen oder letalen Effekt für die Tiere in dem bis 2100 prognostizierten Szenario der Ozeanversauerung.

4.2.1 RESPIRATION

Zur Respirationsmessung finden sich Ergebnisse für 5 Echinodermata bei Houlihan & Duthie (1981), die zeigen, dass keine signifikanten Respirationsunterschiede zwischen Labormessungen und Messungen *in situ* festgestellt werden konnten.

Nauen (1978) beschreibt, dass der Gasaustausch bei *Asterias rubens* zwischen 40 und 50% über den nicht-kalkbedeckten Hautabschnitt und speziell über die Papulae-Ausstülpungen der aboralen Seite stattfindet. Weitere Orte des Gasaustausches sind die Ambulakralfüßchen. Salinität wird hier als nicht bedeutender Regulator der Respiration beschrieben, wohl aber die Größe des Tieres, dessen Ernährungszustand, die Temperatur und der pH-Wert des Umgebungswassers. Die Atmungsfähigkeit steigt bis 25°C, um bei höheren Temperaturen stark abzufallen (Nauen 1978). Aufgrund der starken jährlichen Temperaturschwankungen in der flachen Kieler Förde bedeutet das eine Änderung der jeweiligen Atmungsrate um etwa den Faktor 3.

Die Atmungsrate bei *A. rubens* ist höher, wenn die Tiere kurz vor der Messung noch gefressen haben – Nauen (1978) gibt hierzu keine genaueren Werte. Die Atmung wird bei Nauen (1978) durch die Formel

$$\text{Respiration} = a * W^b$$

beschrieben (a=Koeffizient, W=Gewicht; b=Exponent, der die Größenabhängigkeit angibt). Die Größe b ist dabei zwischen 2/3 und 1 anzusiedeln (Steigerung zwischen Flächen- und Gewichtsproportionalität), wobei Nauen in den vorliegenden Daten zu *A. rubens* große Unterschiede aufzeigt. Kowalski (1955) führt an, dass die verhältnismäßig geringe Atmung der Tiere in der Kieler Förde nicht durch die geringere Aktivität der Tiere bedingt ist, sondern durch einen geringeren Gewebestoffwechsel. Eine relativ konstante Atmung für Außen-pHs zwischen 5,5 und 7,8 wird ebenfalls von Nauen (1978) gezeigt.

4.2.2 WACHSTUM

Verringertes Größenwachstum bei *Asterias rubens* in der Kieler Förde wird bei Kowalski (1955) im Vergleich zu Nordseetieren gezeigt. Während Ostseetiere einen Radius von 3-5 cm aufweisen, bringen es Nordsee-Seesterne mit 6,5-8cm auf fast die doppelte Größe (Untersuchungszeitraum: 05/1953-05/1954). Fortpflanzungsfähigkeit von Fördetieren wurde experimentell von Kowalski nachgewiesen und wodurch die Hypothese widerlegt wird, dass es sich bei den Tieren in Kiel nur um den Eintrag planktonischer Larven handelt (Nauen 1978).

Als potentielle Flaschenhals-Lebensphase gelten auch bei *A. rubens* die Larvenstadien. Neben den in der Kieler Förde bereits bei Nauen (1978) beschriebenen negativen Effekten auf das Wachstum bei

geringer Salinität fanden auch Dupont & Thorndyke (2008) signifikant negative Effekte auf *A. rubens*-Larven durch Ozeanversauerung, selbst wenn nur die Elterngeneration der Larven den versauerten Bedingungen ausgesetzt war.

4.2.3 AKTIVITÄT

Aktivitätsbestimmungen in Abhängigkeit von der Temperatur finden sich ebenfalls bei Kowalski (1955). Die Autorin zeigt, dass Nordseetiere im kompletten untersuchten Temperaturspektrum eine größere Aktivität aufweisen als Ostseetiere und ebenfalls durch eine höhere Aktivitätsausdauer ausgezeichnet sind als die Kieler Population. Die hier gewählten Umkehrversuche von Seesternen von Kowalski (1955) wurden auch für die unten beschriebenen Aktivitätsmessungen mit den Seesternen gewählt. Anhand der Daten von Kowalski wird ersichtlich, dass Temperaturen von 13°C, wie sie in den Experimenten dieser Arbeit angewandt wurden, einer verhältnismäßig hohen Aktivität entsprechen. Änderungen letzterer durch Ozeanversauerung sollten hier also deutlich hervor treten.

4.2.4 Körperzusammensetzung und Kalzifizierung

Die Körperzusammensetzung bei *Asterias rubens* ist bei Ostseetieren wasserhaltiger. Damit gehen auch ein geringerer Anteil der organischen Substanz und ein geringerer Anteil des Kalkskelettes am Frischgewicht einher. Kowalski (1955) gibt für die stabileren Nordseetiere ein Skelettgewichtsanteil am Trockengewicht von 57,2% an und für die Ostseetiere einen Anteil von 48,4%. Auf das Trockengewicht bezogen unterscheidet sich der Anteil der Organischen Matrix dagegen zwischen den Populationen nicht. Kowalskis (1955) Beobachtungen, dass Ostsee-Seesterne „wesentlich weicher“ sind und „weniger Skelettsubstanz“ (Zitate) enthalten decken sich mit den Befunden des geringeren Skelettanteils bei Ostseetieren. Auf welche Ursache diese strukturellen Unterschiede zurückzuführen sind, wird in der vorliegenden Literatur nicht erwähnt. Da sich die bereits untersuchten Abnahmen des Skelettanteils bei Ostsee-Seesternen eventuell bei erhöhten $p\text{CO}_2$ -Werten deutlicher abzeichnen könnten, sind Analysen der Kalzifizierung im Rahmen der vorliegenden Forschungsfrage (siehe **Einleitung 5.**) mit möglichst großer Vielschichtigkeit durchzuführen.

Eine nähere Analyse des Kalkskeletts von Kieler *A. rubens* mit Hilfe der ^{45}Ca -Labelling-Methode liegt von Nauen und Böhm (1979) vor. Hier wird der Anteil des MgCO_3 mit 7,1% ($\pm 0,7$ Std.Abw.) angegeben, derjenige des CaCO_3 mit 86,9% ($\pm 1,3$ Std.Abw.). Der Magnesium-Kalzit Anteil ist hier deutlich geringer als zu erwarten wäre (11%), was Nauen und Böhm (1979) auf die geringe Jahresdurchschnittstemperatur zurückführen. Der Magnesiumgehalt des Skelettes bei *A. rubens* bedeutet, dass die Tiere – abgesehen von der organischen Schutzschicht über den Kalkstrukturen – theoretisch wie Tiere mit einem Aragonit-Skelett durch die hohen $p\text{CO}_2$ -Werte in der Kieler Förde in ihrem

Kalzifizierungsvermögen eingeschränkt sein können. Dieser Effekt sollte durch die ausbleibende Regulation des extrazellulären pHs verstärkt werden (**Abb.5**).

Eylers (1976) beschreibt die Skelettmechanik von *A. rubens* am Beispiel von *Asterias forbesii*. Die Anatomie von *A. rubens* wird von Gaudry (1851) beschrieben, wobei diese von der *A. forbesii* kaum abweicht. Eylers (1976) weist etwa auf die statische Bedeutung der Ambulakral-Skelettbögen (**Abb.7**) beim Öffnen von Muscheln hin, die der Kraft der Ambulakralfüßchen entgegen wirken.

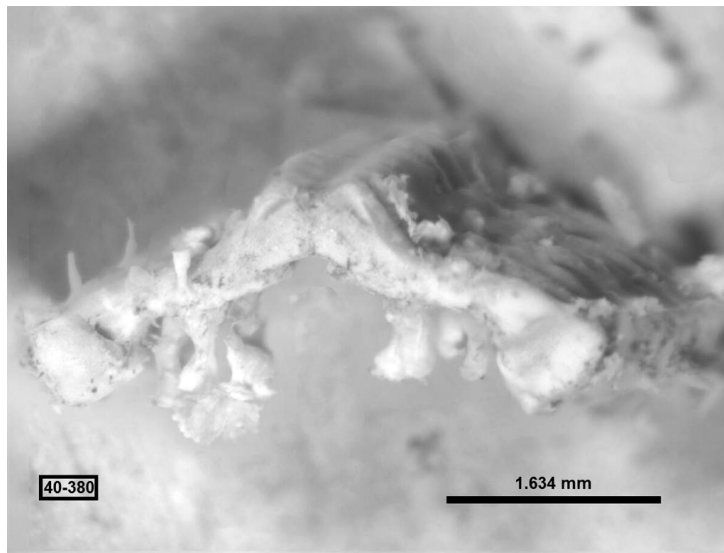


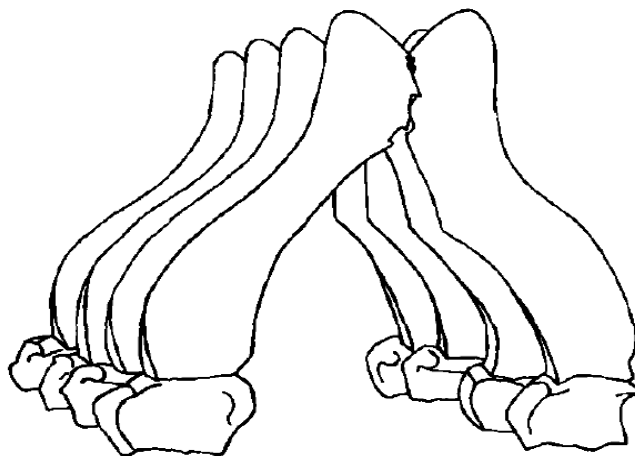
Abb.7

Ambulakralbögen bei Asterias

OBEN Mehrschichtaufnahme von sechs Ambulakralbögen bei *A. rubens* (Binokular, Vergrößerung 400x). Die untere Bildkante entspricht der oralen Seite des Seesternes, die obere der aboralen Seite.

UNTEN Schema der Ambulakralbögen von *A. forbesii*.

Aus: Eylers (1976). Anordnung wie oben.



Die Fähigkeit des Skelettes einer Deformation durch die Kraft der Muskeln bzw. der Saufüßchen entgegenzuwirken ist dabei zentrales Kriterium für den Ernährungserfolg der Tiere. Im Kontext der Ozeanversauerung könnte eine Störung der Stabilität des Ambulakralskelettes oder eine Abnahme der an ihrer Leistungsgrenze operierenden Saugfußmuskeln (Eylers 1976) Schwierigkeiten bei der Nahrungsaufnahme für das Tier bedeuten. Daher ist die Beobachtung einer sich ändernden Struktur hier von besonderer Bedeutung. Als Näherungsfaktoren für die strukturelle Stabilität des Seesternes

wertet Eylers (1976) die Anzahl von Ambulakraltbögen bzw. deren Abstand im Verhältnis zur Größe des Tieres (lineares Verhältnis).

Ebenfalls von Interesse könnte die Veränderlichkeit der Muskelstruktur sein (Wood et al. 2008), die in dieser Arbeit aufgrund ihrer zeitlichen Beschränkung leider nicht mehr analysiert werden konnte. Weitere Hinweise zur Struktur der Verbindungen zwischen Muskel und Kalkplatten finden sich bei Stauber & Märkel (1988) und Uhlmann (1968).

4.2.5 NAHRUNGS-AUFNAHME

Einen weiteren Stresseffekt durch Hyperkapnie für *Asteria rubens* beschreibt Irving (1926. Dem pH des ausgestülpten Magens von Seesternen ist ein Außenmediums-pH zugeordnet, bei dem die Tiere den für die Verdauung optimalen pH von 6,7 im Caecum beibehalten können. Sinkt der pH des Außenmediums auf Werte unterhalb derer des Magens (also etwa ab pH=6,8), findet eine rapide Absenkung des Magen-pHs auf 6,3 statt, der für großflächigen Gewebetot im Magen sorgt. Auch wenn eine Absenkung des Meeres-pHs durch Ozeanversauerung nur bis 7,8 prognostiziert wird (bis 2100 ; Caldeira & Wickett 2007) und diese Schwelle weit von Irvings kritischem pH entfernt ist, kann die Hyperkapnie auch für die Verdauung negative Effekte hervorrufen, wenn die versauerten Bedingungen mit anderen Stressoren *A. rubens*‘ Toleranz gegenüber Umweltfaktoren kritische belasten. Die Betroffenheit verschiedener Enzyme durch hyperkapnischen Stress wird auch von Somero (1985) gezeigt, was ebenfalls für eine Belastung der Nahrungsaufnahme und –umsetzung bei hohen $p\text{CO}_2$ s sprechen könnte.

4.2.6 LANGZEITVERSUCHE ZUR OZEANVERSAUERUNG MIT ASTERIAS RUBENS

Appelhans et al. (eingereicht 2011) zeigen in Vorgängerexperimenten zu dem unten geschilderten Versauerungsexperiment, dass adulte *A. rubens* aus der Kieler Förde eine (nicht-signifikant) gesteigerte Biomasse bei leicht versauerten Bedingungen ($p\text{CO}_2=1250 \mu\text{atm}$), aber eine deutlich verringerte Zunahme bei $3500 \mu\text{atm}$ aufweisen. Die Beobachtung der Fraßraten ergab gleichfalls, dass nach einer leichten (nichts-signifikanten) Zunahme bei mittleren Versauerungswerten eine deutliche Abnahme des Fraßes bei hohen $p\text{CO}_2$ -Werten stattfand. Es zeichneten sich Pufferungseffekte für das Ökosystem ab, wobei grundsätzlich kleinere Tiere der Hauptnahrungsquelle (Thomsen et al. 2010) *M. edulis* bei hohen $p\text{CO}_2$ Werten durch eine geringere Fraßrate der nachstellenden Seesterne kompensiert wurden. Größenspezifische Fraßpräferenzen änderten sich in den Experimenten von Appelhans et al. nicht. Durch versauerte Bedingungen geschwächten *M. edulis* wurden hier nur in signifikant erhöhtem Maße von Seesternen unter Kontrollbedingungen gefressen. Fraßpräferenzen von ebenfalls unter versauerten Verhältnissen gehälterten Seesternen für Muscheln aus Versauerungsbedingungen zeichneten sich nur geringfügig ab.

Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) zeigen in einem dem unten beschriebenen Versuch sehr ähnlichen Langzeitexperiment (9 Monate ; $p\text{CO}_2$ -Werte der Behandlungen \pm Std.Abw.: $650.7 \pm 153.6 \mu\text{atm}$; $1155.3 \pm 385.3 \mu\text{atm}$; $3483.9 \pm 429.9 \mu\text{atm}$) mit juvenilen Seesternen, dass *A. rubens* unter Kontrollbedingungen etwa eine sechsmal höhere Biomassesteigerung aufweist als *A. rubens* bei $3484 \mu\text{atm } p\text{CO}_2$. Die Fraßmenge (an *M. edulis*) wurde ebenfalls mit einem nahezu um den Faktor 10 erhöhten Fraß bei Kontrolltieren als statistisch signifikant befunden.

In den gleichen Versuchen wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Aktivitätsmustern der Seesterne festgestellt. Die Änderung der Kalzifizierung war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Behandlungen.

Eine detailliertere Auseinandersetzung mit den Ergebnissen von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) kann im Diskussionsteil dieser Arbeit im Kontext zu den hier gesammelten Ergebnissen eingesehen werden.

5. MOTIVATION, FRAGESTELLUNG UND HYPOTHESEN DER ARBEIT

Die oben beschriebenen Auswirkungen von Ozeanversauerung bedeuten für *Asterias rubens*, dass die sich im Verhältnis zu erdgeschichtlich früheren Ozeanversauerungen rapide ändernden Lebensbedingungen weitgehende Einflüsse auf das Kalzifizierungsvermögen der Tiere haben können. Da die Ausbildung eines funktionellen Bewegungsapparates für den Nahrungserwerb der Tiere essentiell ist, besteht weiterhin Grund zur Annahme, dass erhöhter $p\text{CO}_2$ -Stress Auswirkungen auf das Fraßverhalten, das Wachstum und den Metabolismus haben kann. Da *A. rubens* aufgrund der vergleichsweise geringen Artendiversität und dem großen Vorkommen in der westlichen Ostsee für die Struktur des dortigen Ökosystems von großer Bedeutung ist, stellt sich für die vorliegende Arbeit die Frage, anhand welcher veränderlichen Parameter die Reaktion von *A. rubens* auf Seewasserversauerung beschrieben werden kann.

Es wurde zu Beginn der Hypothesenfindung davon ausgegangen, dass Ozeanversauerung zu Schwierigkeiten bei der Kalzifizierung führen kann und (eventuell dadurch – siehe **Diskussion 4.5**) auch Auswirkungen auf andere *Performance*-Parameter (z.B. Fraß oder Wachstum) haben kann. Für den Fall einer Beobachtung veränderten Wachstums bzw. veränderter Fraßraten, aber keiner offensichtlichen Änderung der Kalzifizierung wurde das Untersuchungsfeld um die Beobachtung struktureller Änderungen der Kalzifizierung erweitert. Die Beobachtung von Änderungen des Metabolismus und des Energiehaushalt erfolgte, um beobachtbare Unterschiede die vermuteten Unterschiede des Wachstums (s.u.) besser erklären zu können.

Es ergeben sich für die vorliegenden Experimente anhand der Vorüberlegungen folgende Arbeitshypothesen:

H_A Fraß & Wachstum: Erhöhte CO_2 -Bedingungen haben Auswirkungen auf das Fraß- und Wachstumsvermögen, was sich bereits nach wenigen Wochen in entsprechenden Monitoringversuchen nachweisen lässt.

H_A Aktivität: Mit einem geschwächten Bewegungsapparat geht auch die Aktivität der Seesterne zurück, wodurch es den Tieren unter erhöhten $p\text{CO}_2$ -Werten schwerer fällt auf einen externen Reiz (z.B. vorhandene Nahrung) zu reagieren.

H_A Metabolismus: Aufgrund der saureren Bedingungen bei hohem $p\text{CO}_2$ ändert sich als Reaktion auf die veränderlichen Umweltbedingungen die Exkretionsrate von Ammonium. Die Respirationsraten als Maß der Metabolismus-Aktivität ändern sich als Reaktion auf den erhöhten Umweltstress

H_A Kalzifizierung: *A. rubens* kann unter erhöhten $p\text{CO}_2$ -Bedingungen das für die Art essentielle Kalkskelett nur unzureichend aufbauen. Die vermuteten Kalzifizierungsunterschiede bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen zeigen sich quantitativ (Skelettgewicht pro Trockengewicht) oder zumindest qualitativ auf Röntgenbildern oder in computertomographischen Kalzium-Scorings. Sollten hier keine Unterschiede zu Tage treten, können Änderungen dennoch in strukturellen Details (wie etwa bei den Ambulakrallbögen) durch die Seewasserversauerung hervorgerufen werden

Die im folgenden beschriebenen Experimente bauen auf den bereits beschriebenen Langzeitversuchen von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) auf und versuchen die Frage zu klären, welche versauerungsbedingten Änderungen bereits in den ersten sechs Versuchswochen beobachtet werden können. Auch wenn Langzeitversuche eine deutlich höhere Prognosekraft zuzuschreiben ist, liegt die Stärke des unten beschriebenen Experimentes in einer besseren Vergleichbarkeit der Tiere untereinander (speziell Metabolismusraten und Kalzifizierung), da in diesem Fall die Tiere nach nur sechs Wochen noch keine derart ausgeprägten Größenunterschiede aufweisen, wie dies nach Langzeitexperimenten der Fall ist.

B. METHODEN

Um die Möglichkeit eines Datenvergleiches zu gewährleisten, erfolgte für das sechswöchige Versauerungsexperiment der Aufbau und die Methoden der Messungen weitestgehend nach den bereits oben genannten Langzeitversuchen von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009). Details werden unter **Methoden 2.1** beschrieben.

1. SAMMLUNG DER ORGANISMEN

Ca. 100 Individuen von *Asterias rubens* wurden an der Kaimauer in der westlichen Innenförde (unmittelbarer Nähe des IFM-GEOMARs – 54° 19' 42" Nord, 10° 8' 51" Ost) auf etwa 100m Länge in 0,2 bis 1,5 m Wassertiefe gesammelt. Die Tiere lebten auf einer dichten *Mytilus edulis* Kolonie. Um Verletzungen der Seesterne vorzubeugen, wurden die Muscheln mit einem Eisenkratzer mit Fangnetz vorsichtig von der Mauer gelöst. Anschließend wurden die auf und zwischen den Muscheln sitzenden Seesterne per Hand vorsichtig gelöst und in Förde-Wasser ins Institut gebracht. Aufgrund der wenigen auffindbaren Individuen der gesuchten Größe zog sich die Sammlung auf 4 aufeinander folgende Tage hin (4.-7. Oktober 2010).

Während der Bauphase des Experimentes von 10 Tagen wurden die Seesterne in der später für das Experiment genutzten Klimakammer (reguliert auf 14,3°C) in einem Aquarium (90 Liter, Versorgung mit Frischwasser aus der Förde) gehalten. Die Fütterung erfolgte *ad libitum* mit *Mytilus edulis*. Am Tag des Experiment-Beginns wurden aus den gesammelten Seesternen die 54 Seesterne ausgesucht, die optisch einen gesunden Eindruck machten (also keine Verstümmelungen, Brüche, ungewöhnliche Weiche des Körpers aufwiesen). Die Größe der Seesterne wurde bei Versuchsbeginn auf 1,8 bis 2,5 cm, das Gewicht auf 0,27 bis 0,86 g festgelegt (siehe **Tab. 1**). Die relativ große Variabilität der Tiere ist auf die geringe Anzahl tatsächlich auffindbarer Seesterne im Herbst 2010 zurück zu führen. Die Ausgangsgröße der von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) verwendeten Individuen von *A. rubens* betrug ca. 1 cm, wobei diese Größe für den hier beschriebenen Versuch nicht verwendet werden konnte, da kaum Tiere dieser Größe auffindbar waren.

2. VERSUCHSAUFBAU

2.1 GENERELLER AUFBAU

Für die Manipulation der Seewasserbedingungen mit CO₂ wurde ein Seewasser-Durchlaufsystem mit einsprudelndem CO₂-Luft-Gemisch gewählt (siehe **Abb. 8**). Vom Institut an zentraler Stelle der Förde entnommenes Wasser (Entnahmetiefe 12 m, 100m vom Ufer) wurde in einem Vorflut-Becken

(Durchflusssystem, 90 l Volumen) mit Druckluft besprudelt, um den natürlich erhöhten CO₂-Partialdruck des Fördewassers zu reduzieren. Durch dieses Becken wurde auch ein Teil der im Wasser gelösten Proteine in Form von Schaum dem Wasser entzogen. Ansonsten wurde von einer weiteren Aufarbeitung des Wassers durch UV-Filter oder Protein-Skimmer abgesehen, um möglichst umweltnahe Bedingungen zu erreichen. Vom Vorflutbecken wurde das Wasser in drei über dem Experiment angebrachte, 45 l Vorbehandlungsbecken gepumpt, in denen die jeweiligen CO₂-Bedingungen durch Einsprudeln (380 ppm, 1120 ppm, 4000 ppm) aus der zentralen CO₂-Anlage des Instituts vorbereitet wurden. Das jeweilige Gas setzt sich dabei aus Luft zusammen, welches durch Zusp eisung von reinem CO₂ auf die gewünschte Konzentration gebracht wird. Die drei Vorsprudelbecken wurden ebenfalls nach dem Überlaufprinzip gebaut, um bei wechselndem Wasserdruck gleichmäßige Durchflussraten in den Aquarien beizubehalten. Die Becken wurden vom Seewasser in Richtung aufsteigender CO₂ Konzentration durchflossen, sodass eine Versorgung aller Aquarien mit Wasser möglichst gleicher Qualität gewährleistet werden konnte. Von den Vorsprudelbecken wurde das Wasser über Schläuche (4mm Innendurchmesser; grün gegen Algenbewuchs) in die Aquarien geleitet, wo die Durchflussmenge durch Schlauchklemmen eingestellt werden konnte.

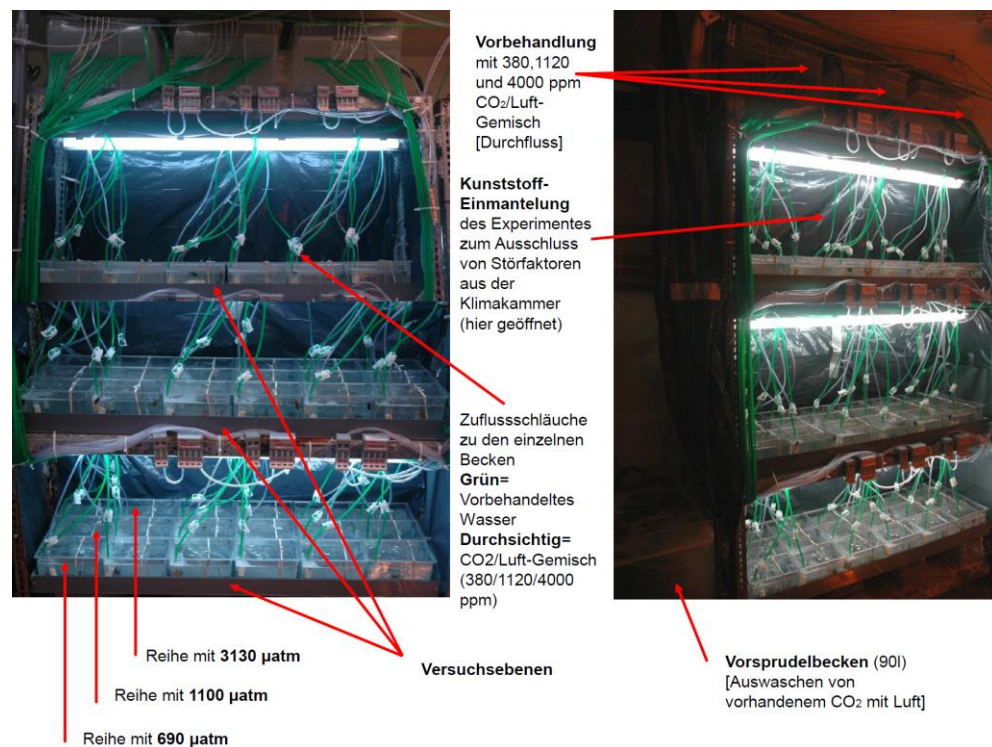


Abb.8 Versuchsaufbau des Seewasser-Durchfluss-Experimentes in der Klimakammer (14,3 °C). 54 Tiere; 3 pCO₂-Behandlungsebenen; N=18; 6 Wochen unter manipulierten Versuchsbedingungen.

Der Durchfluss musste aufgrund der kleinen Aquariengröße gering eingestellt werden, um die gewünschten Bedingungen des Carbonatsystems erreichen zu können. Mit einem mittleren Durchfluss von 414 – 690 ml pro Stunde (**Tab.2**) wurde das Wasser in den Aquarien ca. alle 3-4 Stunden komplett ausgewechselt. Die geringen Durchflussraten ermöglichten eine verhältnismäßig hohe Konstanz der

Temperatur (12,5-13,5°C, **Tab.2**), jedoch war selbst bei täglicher Kontrolle Variabilität der Durchflussraten durch die Beschaffenheit der Versuchsmaterialien unabdingbar. Temperatur, Durchfluss, pH und Salinität wurden wöchentlich für alle Aquarien gemessen und angepasst. Durchfluss und Besprudelung wurden täglich in allen Aquarien kontrolliert und gegebenenfalls justiert. Eine Veränderung der Bedingungen durch einen kompletten Ausfall der Seewasser-Manipulation wurde in keinem Fall beobachtet. Verminderungen des Durchflusses durch Rückstände in den Leitungen kamen gelegentlich bei allen Aquarien vor, hatten jedoch auf den pH des Wassers verhältnismäßig geringe Auswirkungen (pH-Änderung von weniger als 0,1). Alle Aquarien verfügten über einen Überlauf in 11 cm Höhe, sodass der Wasserstand konstant gehalten werden konnte. Die Salinität hing jeweils vom Zustand des eingespülten Ostseewassers ab und unterlag natürlichen Schwankungen – es wurde Werte zwischen 15,3 und 19 gemessen (**Tab.2**).

In den einzelnen Aquarien wurde das Wasser der Becken ein weiteres Mal mit dem jeweiligen Luftgemisch besprudelt. Durch die Kombination der Kontrolle von pH und Durchflussraten konnte die Veränderungen der pH-Werte innerhalb der jeweiligen Aquarien im Bereich von etwa ± 0.05 pH-Stufen (meist deutlich geringer) konstant gehalten werden. Durch die Manipulation des Seewassers ergaben sich in den Aquarien mittlere $p\text{CO}_2$ -Werte von 690, 1100 und 3130 μatm (Details siehe **Tab.2**; **Abb.9**). Dass diese Werte von der CO_2 -Konzentration der eingesprudelten Luft (380, 1120 und 4000 ppm) abwichen, kann (für die Kontrolle) auf einerseits die immer noch hohe CO_2 -Konzentration des genutzten Ostseewassers zurück geführt werden, andererseits auf die proportional zum Durchfluss geringe Zeit, über die das Luft- CO_2 -Gemisch in Austausch mit dem Wasser kam. Die Kontrollbedingungen entsprechen mit 690 μatm nicht den $p\text{CO}_2$ -Bedingungen im offenen Ozean, kommen jedoch durch die natürliche Versauerung den heutigen Bedingungen in der Kieler Förde recht nahe (**Abb.6**). Die hier verwendete Kontrolle entspricht mit ihrer Carbonatsystem-Spezifikation einer leichten Versauerungsbehandlung in Experimenten anderer Autoren (Gooding et al. 2009).

Um Messartefakte durch eventuelle Luftströmungen der Klimaanlage im Versuchsraum oder die Beleuchtung anderer Experimente möglichst gering zu halten, wurde das ganze Experiment rundherum mit schwarzer Plastikfolie eingekapselt. Die Aquarien wurden aus durchsichtigem Kunststoff mit aufgelegtem durchsichtigem Deckel gefertigt und waren dicht aneinander aufgereiht. Durch die Ansträgung der Aquarienwände und den unterschiedlichen Brechungsindex von Kunststoffwand und Wasser waren im jeweiligen Nachbaraquarium keine deutlichen Strukturen ausmachbar, sodass nicht von gegenteiliger Beeinflussung der Tiere ausgegangen wurde.

Die Beleuchtung erfolgte während des ganzen Experimentes in einem 12:12-Stunden Verhältnis von Hell- zu Dunkelphase. Dabei wurde jede der drei Versuchsebenen (Regalböden) mit einer Leuchtstoffröhre (36 Watt) bestückt, wobei die Lampen der Länge des Aufbaus entsprachen, sodass die Aquarien gleichmäßig hell beleuchtet wurden.

Bei Versuchsbeginn wurde darauf geachtet, dass die verschieden großen Seesterne gleichmäßig dem Gewicht entsprechend auf die einzelnen Behandlungen aufgeteilt wurden (s. Fig.1), sodass sich eine durchschnittliche Größe der Seesterne wie in **Tab. 1** ergab.

Tab. 1 Verteilung der Tiere zu Versuchsbeginn nach Größe und Gewicht auf die drei Behandlungsebenen.
Der Unterschied zwischen den Ebenen ist statistisch nicht-signifikant (siehe Zeile 2).

Behandlung ($\mu\text{atm } p\text{CO}_2$)	Durschnittl. Gewicht (g) (\pm Std.Abw)	Durschnittl. Größe (cm) (\pm Std.Abw)
Statistisch signifikanter Unterschied?	NEIN (F=0,83; p=0,920)	NEIN (F=0,388; p=0,681)
690	0.4494 ($\pm 0,0159$)	2.1222 ($\pm 0,0336$)
1100	0.4533 ($\pm 0,0168$)	2.1278 ($\pm 0,0492$)
3130	0.4406 ($\pm 0,0194$)	2.0778 ($\pm 0,0218$)

Die 54 Tiere wurden am 21.Oktober jeweils in ein Aquarium von 1,6 l Fassungsvermögen eingesetzt und wurden dort für sechs Wochen gehältert. Aus der Anordnung der Aquarien ergab sich ein Aufbau wie in **Abb.9** dargestellt. Eine Diskussion des Aufbaus findet sich unter **Diskussion 1.1**.

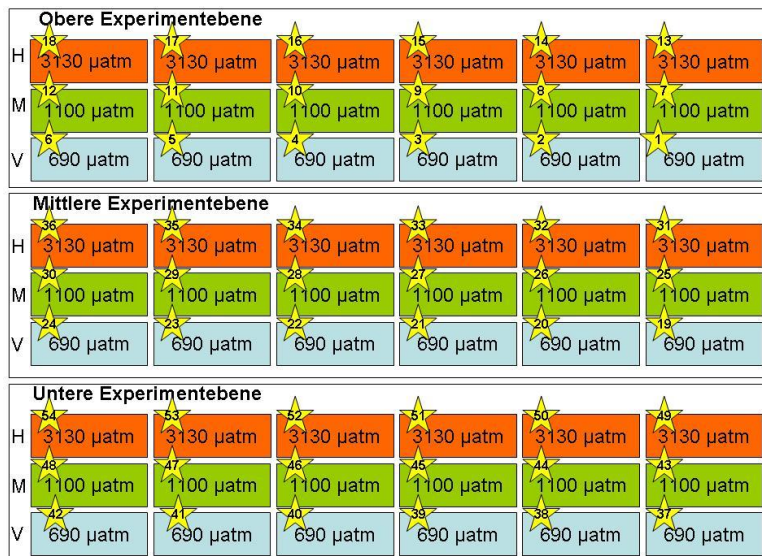


Abb.9

Versuchsanordnung in drei Ebenen.

H=Hintere Reihe [3130 μatm]

M=Mittlere Reihe [1100 μatm]

V=Vordere Reihe [690 μatm]

Nummern in den Sternen stehen für die Individuen.

Der vorhandene Platz erlaubte eine Replikation von 18, wobei je 6 Replikate jedes $p\text{CO}_2$ -Niveaus auf einem der drei Regalböden des Experimentes untergebracht wurden. Es wurden regelmäßig die Temperaturen an den einzelnen Standorten der Aquarien verglichen, wobei keine dauerhaften Unterschiede festgestellt werden konnten.

Für das hier beschriebene Experiment wurden bis auf die Vorbehandlungsbecken, einen Teil der Schläuche und die Regulationsbatterien für Wasser und Gasregulation alle Materialien aus früheren Experimenten wieder verwendet. Nach dem Experiment wurden fast alle Materialien für weitere Versuche recycelt.

2.2 MODIFIKATION DES AUFBAUS

Aufgrund der hohen CO₂-Konzentration, die bereits im Wasser der Förde vorhanden war, mussten acht Tage nach Beginn des Experimentes die Durchflussraten verringert und ein Vorsprudelbecken eingebaut werden (siehe **Diskussion** [1.1](#)). Die dadurch entstehenden Divergenzen zum Versuchsbeginn sind in den Messdaten für Carbonatsystem, Temperatur und Durchfluss deutlich erkennbar (**Tab.2**). Eine Veränderung im Wachstums- oder Fraßverhalten von *Asterias rubens* konnte nach der Versuchsmodifikation nicht beobachtet werden (siehe **Ergebnisse** und **Diskussion**).

3. MONITORING DER VERSUCHSBEDINGUNGEN

Neben der täglichen Kontrolle der Durchflussraten wurden am Ende jeder Versuchswoche sechs Proben (2 je CO₂-Behandlung) zur Bestimmung des Carbonatsystems genommen. Letzteres wurde durch die Parameter DIC, pCO₂, TA und pH beschrieben (vergleiche **Einleitung** [1.](#)) Ergänzt wurden diese Größen durch die Angaben der Sättigungsgrade der Kalzium-Kristalle Aragonit und Kalzit (siehe **Tab.2**). Gemessen wurde jeweils der DIC und pH, die anderen Parameter wurden daraus rechnerisch ermittelt. Bei den Probenahmen wurden gasdichte Schott Duran 250 ml Flaschen (mit geschliffenem und gefettetem Verschluss) mit dem Probenwasser gefüllt, 30 Sekunden mit dem Aquarienwasser gespült und anschließend mit drei Tropfen HgCl₂ vergiftet um Verfälschungen durch bakterielle Respiration zu unterbinden. Die Analyse erfolgte in einem SOMMA-System Autoanalyser, in dem die CT-Werte und pH-Werte durch CO₂-Extraktion mittels Ansäuerung und coulometrischer CO₂-Titration bestimmt wurden. In dem Verfahren wird zunächst eine bekannte Menge von Seewasser in einer Kammer angesäuert. Ein inaktives Gas (hier: reiner Stickstoff) treibt das vorhandene CO₂ aus. Die Menge an in dem resultierenden Gasstrom vorhandenen CO₂ wird durch ein Ethanolamin-haltiges Absorbtionsmittel gebunden, der entstandene 1,1-Dimethylethylester wird coulometrisch titriert. Die Genauigkeit (*precision*) der Messung wird mit $\pm 1 \mu\text{mol kg}^{-1}$, die Richtigkeit (*accuracy*) mit $\pm 2 \mu\text{mol kg}^{-1}$ angegeben (Körtzinger 2010). Eine genaue Übersicht über die Methode kann in Dickinson et al. (2007) gefunden werden. Die Werte des Carbonatsystems wurden mit dem CO₂SYS-Macro berechnet. Die Dissoziationskonstanten K₁ und K₂ wurden nach Roy et al. (1993) gewählt. Als pH-Skala wurden Werte der *Total*-Skala (mol/kg Seewasser) genutzt, wobei die gemessenen Daten zuvor von der NBS-Skala auf *Total*-Skala Standard umgerechnet wurden.

Zusätzlich wurden jede Woche die Durchflussraten durch Zählen und Quantifizieren der Tropfenanzahl pro Zeit ermittelt. In jedem Aquarium wurden zu Beginn jeder Woche die pH-Werte und die Temperaturen (WTW 315i-pH Analyzer, WTW SenTix 81 Messkette, NBS-Skala) gemessen. Die Salinität wurde wöchentlich in den Aquarien gemessen, aus denen auch die Wasserproben für die Carbonatsystem-Bestimmung entnommen wurden (Messgerät: WTW Cond 340i, TETRACON 325 Messkette).

Tab. 2 Übersicht über die Parameter des Carbonatsystems, der Salinität, der Durchflussraten und der Temperatur. Für alle Messungen sind Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Die Bestimmung des Carbonatsystems und der Salinität basiert auf zwei Proben pro Woche pro Behandlung, die der Temperatur und Durchflussrate auf allen 18 Becken pro $p\text{CO}_2$ -Niveau und Woche.

Die linke Hälfte der Tabelle („1.-8. Versuchstag“) zeigt die Bedingungen vor dem Einbau des zusätzlichen Vorsprudelbeckens bzw. der Reduzierung der Durchflussraten, die rechte Hälfte (9.-42. Versuchstag) für die Zeit danach.

	1.-8. Versuchstag			9.-42. Versuchstag		
	Kontrolle (900 μatm)	Leicht saures Niveau (850 μatm)	Stark saures Niveau (1840 μatm)	Kontrolle (690 μatm)	Leicht saures Niveau (1100 μatm)	Stark saures Niveau (3130 μatm)
Total Alkalität	1904.3280 ± 40.1166	1941.3826 ± 58.5847	1927.2352 ± 19.1498	2015.2912 ± 59.4757	2048.6807 ± 68.1540	2079.2805 ± 67.6444
pH Total-Skala	7.7314 ± 0.0544	7.7985 ± 0.2506	7.4346 ± 0.0276	7.8599 ± 0.0491	7.7170 ± 0.1270	7.2387 ± 0.0394
DIC	1893.4392 ± 31.6744	1911.3735 ± 13.9881	1983.9101 ± 25.4056	1967.3740 ± 55.0584	2030.8800 ± 61.1675	2195.7338 ± 64.5233
$p\text{CO}_2$ (in μatm)	897.5154 ± 100.8549	853.4911 ± 360.1558	1837.2308 ± 130.0538	689.5556 ± 79.8059	1101.5689 ± 387.5775	3128.3879 ± 217.2908
Ω_{Kalzit}	1.0485 ± 0.1189	1.4110 ± 0.9916	0.5472 ± 0.0296	1.5827 ± 0.1888	1.2215 ± 0.4903	0.4131 ± 0.0466
Ω_{Aragonit}	0.6144 ± 0.0682	0.8277 ± 0.5836	0.3207 ± 0.0175	0.9365 ± 0.1129	0.7237 ± 0.2966	0.2444 ± 0.0276
Salinität	15.5571 ± 0.1812	15.5714 ± 0.1889	15.5857 ± 0.1951	16.6600 ± 1.2312	16.6600 ± 1.2536	16.6500 ± 1.1654
Temperatur (in $^{\circ}\text{C}$)	11.9528 ± 0.4084	12.0056 ± 0.3766	12.0389 ± 0.4777	13.3656 ± 0.4356	13.3300 ± 0.4067	13.3444 ± 0.3757
Durchfluss (in ml/h)	220.8333 ± 56.5369	240.2777 ± 58.4861	220.8333 ± 51.8269	9.2997 ± 3.6468	8.9068 ± 3.8373	8.9210 ± 3.4027

4. PROBENNAHME

4.1 WACHSTUM

Die Reinigung der Aquarien wurde wöchentlich durchgeführt, um eventuelle Effekte von Diatomeen, Algen etc. möglichst gering zu halten. Am selben Tag der Reinigung wurden auch die Größenmessungen, Fütterungen und Fraßzählungen durchgeführt, um die Tiere möglichst wenig Stress durch Entfernung aus ihren Aquarien auszusetzen. Die Seesterne wurden vor Experimentbeginn, nach jeweils einer Woche und am Experimentende (nach 6 Wochen) gemessen und gewogen. Für die Größenmessung wurde eine Schieblehre (Genauigkeit: 0,1 mm) verwendet, wobei die längste Distanz („maximale Spannweite“) zwischen zwei Armspitzen gemessen wurde. Dazu wurden die Seesterne auf die Hand gelegt, wo die Arme der Tiere vorsichtig so ausgerichtet wurden, dass sie sich maximal gegenüber lagen (**Abb.10**). Im Unterschied zu anderen Versuchen mit Seesternen wurde hier der maximale Durchmesser als Anhaltspunkt verwendet und nicht wie etwa bei Nauen (1978) der Radius, also die Größe von Interambulakral zur gegenüberliegenden Armspitze (vergleiche Diskussion [1.2](#)).



Abb.10

Messung der Größe der Seesterne über den maximalen Durchmesser.

Anschließend wurde jedes Tier mit einer SCALTEC SBA4 (Genauigkeit $d=0,001$ g) Waage unter einer Glashaube gewogen. Da zur Stressverminderung darauf verzichtet wurde die Tiere aus der Klimakammer zu entfernen, konnten aufgrund der starken Luftbewegungen in der Kammer nur Messungen bis auf 1/100 g genau durchgeführt werden, was bedeutet, dass bei sehr kleinen Tieren die Messung der Körpergewichts nur bis auf 4% des Frischgewichtes genau vorgenommen werden konnte. Da die Seesterne viel Wasser an ihrer Oberfläche zwischen ihren Ambulakralfüßchen

halten, wurde darauf geachtet, dass sie vor der Größenmessung jeweils etwa gleichviel mit trockener Fläche in Kontakt waren. Die Tiere wurden jedoch vor dem Wiegen nicht durch Filterpapier oder Ähnliches getrocknet.

4.2 FRAß

Während der Reinigung der Aquarien wurden die gefressenen Muscheln anhand der geöffneten Schalen gezählt. Jedem Tier wurden pro Woche sechs Muscheln zum Fraß zur Verfügung gestellt, es wurde weiterhin gegen Ende jeder Woche bei den täglichen Kontrollen darauf geachtet, dass alle Tiere

noch genügend Futter zur Verfügung hatten. Da in den meisten Fällen nur 1-2 Muscheln gefressen wurden und da die Aquarien sehr klein waren, wurde von einem *ad libitum* Fraßangebot über die Zeit des Experiments ausgegangen. Die verfütterten Muscheln wurden jede Woche am Tag der Fütterung frisch aus der Förde (ca. 100m Entfernung vom Ursprungsort der Seesterne; Wachstum an frei in der Wassersäule in ca. 1,5 m Tiefe hängenden Kunststoffplatten) ins Institut geholt. Um keine verfälschenden Ergebnisse der Fraßmenge durch proportional verschieden große Muscheln zu erhalten, wurde jeder Seestern mit Muscheln in Abhängigkeit von seiner Körpergröße am jeweiligen Messtag gefüttert, wobei der Grundsatz

$$\text{Körpergröße Seestern} - 1 \text{ cm} = \text{Größe der verfütterten Muscheln} \pm 0,1 \text{ cm}$$

angelegt wurde. Da Muscheln ihr Verhältnis von Weichkörpermasse zur Körperlänge in Abhängigkeit von Faktoren wie Jahreszeit etc. ändern (Nauen 1978), wurden jede Woche fünf willkürlich selektierte Muscheln aus den jeweiligen verfütterten Größenklassen bei -20°C eingefroren. Der Weichkörper wurde entfernt und für 24 Stunden bei 80°C getrocknet. Mit dem Trockengewicht wurde für die weitere Auswertung die wöchentliche absolute Fraßmenge in mg berechnet.

4.3. AKTIVITÄTSMESSUNGEN

Um Aussage über eventuelle Unterschiede in der Aktivität der Seesterne treffen zu können, wurden in Anlehnung an die Umkehrversuche von Kowalski (1955) die Seesterne jeweils nach drei und nach sechs Versuchswochen mit der aboralen Seite nach unten („auf dem Rücken liegend“) in ein Aquarium mit dem jeweils entsprechend mit CO₂ angereicherten Wasser gelegt. Es wurden zum Vergleich der Behandlungen jeweils zwei Zeiten festgehalten: Zunächst wurde die *Latenz-Zeit* gemessen – also vom Einbringen des Seesternes ins Aquarium bis zu dessen erstem Bestreben sich wieder in die ursprüngliche Lage zu bringen. Als zweites wurde die Zeit gemessen, die das Tier benötigte, um sich vom Einsetzen der ersten Umkehrreaktion wieder in Normallage zu bringen (*Umkehr-Zeit*). Es wurde darauf geachtet, dass alle Seesterne zu Beginn plan ausgerichtet waren, sodass kein Tier durch eventuell gedrehte Arme einen Vorteil hatte. Es wurde ebenfalls darauf geachtet alle Tiere beim Aquarienwechsel gleichmäßig lange (ca. 3 Sekunden) dem Wasser zu entnehmen, um Stressfaktoren konstant zu halten. Die Versuche wurden mit allen vorhandenen Tieren (54) durchgeführt, sodass die Replikation auch hier bei N=18 lag.

Für die Auswertung wurden die Daten standardisiert, was hier bedeutet, dass die jeweils gemessenen Umkehrzeiten der Versuchstiere gegen eine Aktivitätseichgrade (unveröffentlichte Daten von Appelhans & Thomsen) verglichen wurden. Zur Kompensation der durch die Teilung durch die Standardwerte hervorgerufenen verzerrenden Effekte wurden die erhaltenen Daten logarithmiert. Die Eichgrade wurde bestimmt durch frisch aus der Förde stammende, große Tiere (N=25), bei denen das Verhältnis von Größe zu Umkehrzeit aufgezeigt wurde.

4.4 RESPIRATIONS-UND EXKRETIIONSMESSUNGEN

Respirations- und Exkretionsmessungen wurden direkt im Anschluss an die Fraß- und Wachstumsversuche durchgeführt. Aufgrund der Dauer der Messungen wurden 5 Messtage benötigt. Während dieser Zeit erhielten alle in den Aquarien verbliebenen Tiere Muscheln in der gewohnten Größenzuordnung, sodass eine Nahrungsversorgung *ad libitum* auch hier als Grundlage diente. Es wurden jeweils 4 Tiere zugleich gemessen. Diese wurde nur für den Zeitraum der Messung aus den Aquarien entfernt (ca. 4 Stunden).

Zur Untersuchung der Respirationsraten wurde ein an einen Computer angeschlossenes 4-Kanal Oxy-4-mini Gerät der Firma PreSens GmbH mit optischen Leitern und nicht invasiven Sensor-Spots genutzt. Die Messkammern (Firma Weck – 250 ml Einmachgläser) hatten ein Volumen von ca. 330 ml (nicht zu verwechseln mit dem angegebenen Füllvolumen) und wurden mit vorbegastem (gleiche $p\text{CO}_2$, wie im Experiment), gefiltertem ($0,2\ \mu\text{m}$), sterilisierten (UV) und temperierten (13°C) Wasser befüllt. Luftblasen in den Messgefäßen bzw. das Ausgasen des Wassers wurde durch einen Temperatursenkung von $-0,3^\circ\text{C}$ zum Messbecken ($12,7^\circ\text{C}$) hin und Befüllen der Messgefäße unter Wasser verhindert. Da die Seesterne im Vergleich zum Gefäß proportional klein waren, wurde die Wassermasse im Messgefäß durch einen Rührfisch in Bewegung gehalten. Auf diese Weise konnte durch die gesammelten Datenpunkte (Messungen alle 4 Sekunden; ca. 1500 Messpunkte in ca. 2h10 Minuten) in EXCEL eine Gerade gelegt werden, deren Steigung als Annäherung für die Respirationsrate (also den Sauerstoffverbrauch) genutzt werden konnte. Da die Seesterne unterschiedlich groß waren, wurden alle Messungen Volumen-bereinigt. Dazu wurde vom Volumen der Gefäße als Näherungswert für die Dichte das Gewicht des Seesternes abgezogen. Des Weiteren wurden alle Daten auf eine Atmungsrate in $\mu\text{mol O}_2$ pro Stunde und Gramm Frischgewicht umgerechnet. Um möglichst genaue Werte zu erhalten, wurden Löslichkeitsquotienten von Sauerstoff anhand des aktuellen Luftdrucks, der Salinität und der Temperatur ermittelt.

Nach der Messung der Seesterne, wurden diese vorsichtig aus den Messgefäßen entfernt. Die Gefäße wurden nach Zugabe von 12 ml Wasser als Volumenaufstockung wieder verschlossen, um die Messungen ohne Seesterne für die Bestimmung der bakteriellen Respiration für ca. 35 Minuten fortzusetzen. Die auf diese Weise erhaltene bakterielle Respiration wurde von den Messergebnissen der Seesternatmung abgezogen. Von den Messwerten mit Seesternen wurden die ersten zehn Minuten der Datensammlung verworfen, von den Messwerten der bakteriellen Respiration die ersten fünf. Dieser Schritt wurde für den Erhalt einer möglichst passenden Geraden der Sauerstoffabnahme in den Messgefäßen nötig und diente dazu, Störeffekte während der Anfangsphase zu minimieren.

Die Kalibrierung der optischen Messelektroden wurde zu Beginn jedes Messtages für 0% und 100% Sauerstoffgehalt durchgeführt und an die jeweiligen Temperatur und Luftdruck-Bedingungen angepasst. Aufgrund von Schwierigkeiten mit der Kalibrierung in den Vorversuchen wurden abweichend von den Empfehlungen des Herstellers für die Kalibrierung der 0%-Sättigung 5g

Natriumsulfit (Na_2SO_3) pro 100ml Wasser und eine Einwirkzeit von 2 Minuten verwendet, um einen vollständigen Sauerstoffentzug zu erreichen. Für die 100% Messwerte wurden feuchte Tücher in den Messgefäßen und eine Einwirkzeit von 3 Minuten genutzt. Alle Kalibrierungen wurden simultan durchgeführt, um Effekte durch längere Wartezeiten zu minimieren.

Die Exkretionsmessungen wurden anhand des ausgeschiedenen Ammoniums (NH_4^+) quantifiziert. Dazu wurden zu Beginn, nach den Seestern-Messungen und am Ende der bakteriellen Messungen je zwei Proben von jeweils 4 ml aus jedem Messgefäße entnommen. Diese wurde mit je 1 ml Workreagenz versetzt und für genau 2 Stunden in Dunkelheit gelagert. Anschließend wurden mit einem SFM 25 Contron Fluorometer bei 360 nm Anregung und 422 nm Extinktion (Spannung: 250 V) die Extinktionsraten gemessen. Weiterhin wurden zu Beginn jedes Messtages Ammoniumstandards fluorometrisch für je 2 Proben von 0 ; 5 und 10 mMol Lösungen von NH_4^+ bestimmt. Im Verhältnis zu den Extinktionen der Standards konnte die Stoffmenge von NH_4^+ mit Hilfe einer aus den Standards erstellten Geradenformel für die einzelnen Proben bestimmt werden. Alle Ergebnisse wurden wie auch die Werte der Respirationsmessungen Volumen- und Zeit-bereinigt, sodass die Einheit $\mu\text{Mol NH}_4^+$ Exkretion pro Stunde und Gramm Frischgewicht genutzt werden konnte.

Um eine Energiebilanz ziehen zu können, wurden die zum Wachstum bereit stehende Energie (*Scope for growth [SfG]* - aufgenommene Energie abzüglich Energieverlust durch Atmung und Exkretion) mit der in Biomasse aufgebauten Energie verglichen, um einen Anhaltspunkt für die Energieeffizienz der Tiere der einzelnen Behandlungen zu erhalten. Für die Umrechnung der aufgebauten Körpermasse bzw. der gefressenen Masse an *Mytilus edulis* wurden die ermittelten Energiegehalte für das Trockengewicht von Echinodermata bzw. für das aschefreie Trockengewicht für Bivalvia aus Brey et al. (1988) genutzt. Für die Berechnung der verbrauchten Energie durch die Respiration wurden Werte von 0,45 Joules pro veratmetes $\mu\text{mol O}_2$ aus Gnaiger (1983) verwendet. Bei der Exkretion wurden Werte von 0,347 Joules pro ausgeschiedenes $\mu\text{mol NH}_4^+$ zu Grunde gelegt (Elliot & Davision 1975).

4.5 KALZIFIZIERUNGSUNTERSUCHUNGEN

Zur Klärung eventuell bestehender Unterschiede in der Kalzifizierung wurden die Seesterne direkt nach den Metabolismus-Messungen abschließend gewogen und gemessen (nach 53 Tagen unter Versuchsbedingungen) und daraufhin in 2 Gruppen aufgeteilt: 45 der 54 Seesterne wurde direkt bei -20°C eingefroren. Anschließend wurden diese Tiere bei 80°C für 24 Stunden getrocknet (MMM Ecocell Trockenschrank) und ihr Trockengewicht wurde anschließend mit einer Sartorius Feinwaage (Genauigkeit: $d=0,01$ mg) auf 1/100 mg genau bestimmt. Daran anschließend wurden die Individuen bei 500°C für 24 Stunden in einem Nabertherm B150 Muffelofen eingeäschert. Das Gewicht der Asche wurde wiederum auf 1/100 mg genau bestimmt. Die Asche wurde für eventuell spätere Analysen in Glasröhrchen aufbewahrt. Mit den gemessenen Werten wurde das jeweilige Verhältnis von aschefreiem Trockengewicht zum Gewicht des Skeletts ermittelt. Zur Analyse ob es sich bei den

Ascherückständen ausschließlich um Kalk handelte, wurden auf einige Skelettreste konzentrierte Salzsäure geträufelt. Da sich das Skelett sofort rückstandslos auflöste (bis auf die Stacheln), wird von einem organikfreien Rückstand ausgegangen.

Für die zweite Gruppe wurden 9 Seesterne möglichst gleicher Größe und gleichen Gewichtes für die weitere Untersuchung 10 Minuten in 8%iger MgCl_2 -Lösung sediert (Fish et al. 2008, S.542) um direkt darauf planar ausgerichtet bei -20°C eingefroren zu werden. Die 9 Seesterne verfügten über ein durchschnittliches Gewicht von 1,11g ($\pm 0,11$ Std.Abw) und eine durchschnittliche Größe von 3,38 cm ($\pm 0,12$ Std.Abw). Ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungen lag nicht vor (*Größe*: $F=0,342$, $p=0,723$; *Gewicht*: $F=1,315$; $p=0,336$). Die Seesterne dieser zweiten Gruppe wurden nach 57 Tagen unter Versuchsbedingungen eingefroren. Alle Tiere dieser Gruppe wurden binnen einen Tages im Mammazentrum des Universitätsklinikums Kiel geröntgt und anschließend in der Ersten Klinik quantifizierend im Computertomographen untersucht. Aufgrund der geringen Größe der Seesterne wurden ein hochauflösendes Mammographie-Röntgengerät (Loral – Selina) verwendet. Die optische Vergrößerung war 1,8 fach, die verwendete Beschleunigungsspannung wurde auf 25 kV bei 3 mAs festgelget. Das Röntgengerät lieferte volldigitale Aufnahmen, die bei manueller Belichtung durch einen Molybdän/Molybdän-Filter gemacht wurden. Die Aufnahmen wurden außer im Zuschnitt nicht weiter verändert.

Für die Computertomographie wurden ein mit einem Detektorelement aus 64 Zeilen arbeitendes Siemens Somatom Sensation gerät verwendet. Die Aufnahmen erfolgten mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV bei einer effektiven Rate von 190 mAs. Die Schicht-Kollimation betrug 0,75 mm. Das Bild wurde in der Rekonstruktion mit einer Schichtdicke von 0,6 mm und einem Inkrement von 0,3 mm dreidimensional dargestellt. Es wurde weiter ein Kalziumfenster verwendet, der Kernel wurde als ultrascharf B80f voreingestellt. Die optische Darstellung erfolgte aufgrund bester Sichtbarkeit im Mehrschicht-Modus. Eine Quantifizierung der Kalzifizierung konnte mit einem Kalzium-Scoring anhand der Hounsfield Graustufenskala durchgeführt werden. **Abb.11** zeigt die Ergebnisse der CT-Aufnahmen für drei Seesterne, wobei deren Dichte der Kalkstrukturen direkt vom CT in $\text{mg Hydroxylapatit /cm}^3$ ausgegeben wurde.

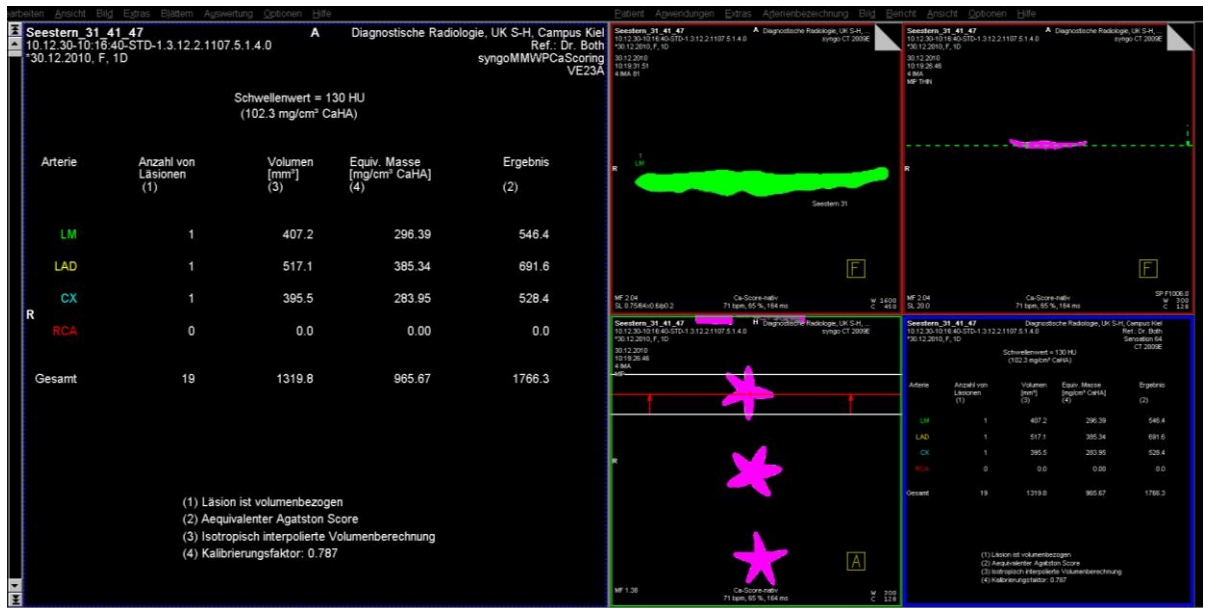


Abb.11

Ausgabe des Computertomographen. Die räumliche Erfassung der Struktur des Tieres wird in der rechten Bildhälfte deutlich, die Dichteverhältnisse und das Volumen der Tiere kann in der linken Tabelle abgelesen werden.

Die Untersuchung der Röntgenbilder erfolgte unter drei Aspekten: Erstens wurden die Zahl der Ambulakrallbögen pro mm Armlänge (gemittelt über alle Arme des Tieres) errechnet. Die Armlänge wurde entlang der Ambulakralrinne möglichst genau vom oralen Peristomalring bis zur Armspitze gemessen. Zur Vermessung der Tiere wurde das Programm Image J verwendet, als Maßstab wurden die Größenskalen der Röntgenbilder genutzt. Als zweite Größe wurde die vordersten Armspitzen (**Abb.12 oben**) mit Image J aus den Röntgenaufnahmen ausgeschnitten und dann auf ihre jeweiligen mittleren Grauwerte hin mit einer 8-bit-Grauskala untersucht. Über die Armspitzen wurde näherungsweise die während des Versuchs durch Wachstum aufgebauten Kalkstrukturen beschrieben. Das gleiche Vorgehen wurde als dritter Schritt auch für das jeweils ganze Individuum angewandt, um auch den gesamten Kalkifizierungs-Unterschied vergleichen zu können (**Abb.12 unten**). Die Analyse der Daten erfolgt über

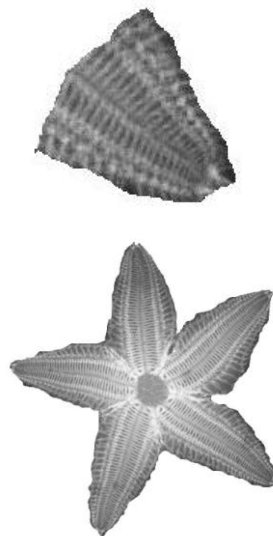


Abb.12

Ausschnitt zur Analyse der durchschnittlichen Graustufe bzw. durchschnittlichen Kalkifizierung.

Oben: Armspitze der äußersten 20 Ambulakrallbögen

Unten: Gesamten Seestern (Abschnitt der Stacheln um Ungenauigkeiten zu vermeiden).

einen direkten Vergleich der ermittelten relativen Graustufen jedes Tiers. Bei der Analyse der Armspitzen wurden die durchschnittliche Graustufe aller Arme eines Individuums für den Vergleich der Behandlungen genutzt. Anschließend an die Röntgen-und CT-Aufnahmen wurden die Tiere wie

die der ersten Gruppe ebenfalls für die quantitative Bestimmung der Kalzifizierung getrocknet und eingeäschert.

Die neun Individuen der zweiten Gruppe wurden ebenfalls auf Unterschiede in der Feinstruktur des Skelettes untersucht. Hierzu wurden an jeder Armspitze jeden Tieres Digitalaufnahmen von den Stacheln und speziell den Stacheln auf den Stacheln unter einem Binokular (400x Vergrößerung, keine optische Bearbeitung) gemacht. Anschließend wurden die Kalkplatten auf der Armoberfläche vorsichtig abgehoben, sodass Fotos von den darunter liegenden Ambulakralkbögen gemacht werden konnten. Da es sich jedoch aufgrund der räumlichen Anordnung und unterschiedlichen Lichtbedingungen als unmöglich erwies, etwa die Größe oder Beschaffenheit der Stacheln verlässlich zu quantifizieren, konnten bestehende Unterschiede nur subjektiv beurteilt werden. Von einer statistische Untersuchung der beobachteten Strukturen wurde deswegen abgesehen.

5. STATISTISCHE ANALYSE

Alle Daten wurden mit Statistika 8 statistisch ausgewertet, die Datensammlung erfolgte in EXCEL. Die Graphen wurden zum Teil mit Statistika und zum Teil mit Sigma Plot aufgearbeitet. Für das Monitoring der Wachstums- und Fraßraten wurden die wöchentlichen Raten mit einer Repeated Measurement ANOVA untersucht. Die Gesamtveränderungen wurden mit einer 1-faktoriellen ANOVA untersucht.

Die Daten für Respirations, Exkretions, Kalzifizierungsunterschiede sowie für die O/N-Verhältnisse und die Verhältnisse von aufgebauter Biomasse zu aufgenommener Energie bzw. *SfG* wurden über eine 1-faktorielle ANOVA analysiert. Gleiches konnte nach der Standardisierung mit den Messungen für die Aktivität (Umkehrversuche) durchgeführt werden. Auch für die Analyse der Röntgenbilder (Graustufen und Ambulakralkbögen-Dichte) wurde dieses Verfahren verwendet.

Bei allen ANOVA-Anwendungen wurden die Daten auf ihre Normalverteilung mit einem Shapiro-Wilk's Test untersucht (Normalität für $p > 0,05$) und bei nicht vorliegender Normalverteilung mit einer BOX-COX-Transformation transformiert. Konnten die Daten durch die BOX-COX Anwendung nicht normalisiert werden, wurde die Signifikanz-Schwelle von 0,05 auf 0,01 herab gesetzt. Die Homogenität der Varianzen wurde mit dem Levene's Test überprüft (Homogenität für Werte $> 0,05$). Mit Tukey's HSD post-hoc Test wurden mögliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen ermittelt. Es galt auch hier grundsätzlich ein Signifikanz-Level von 0,05, bei nicht-normalverteilten Daten wurde es auf 0,01 gesenkt. Bei ungleicher Anzahl der Replikate der verschiedenen Versauerungsniveaus wurde eine ANOVA Typ 3 für ungleiche N (orthogonal) genutzt. Alle ANOVA-Tabellen können im Anhang eingesehen werden.

C. ERGEBNISSE

Für alle folgenden Ergebnisse gilt, dass sich die angegebenen Werte für statistisch signifikante Unterschiede auf – falls notwendig – transformierte Daten bezieht. Die Größenangaben in den Grafen selbst geben immer Originaldaten wieder. Als statistische Signifikanz-Schwelle gilt $p < 0,05$. Bei nicht-normalverteilten, nicht-transformierbaren Daten wurde die Signifikanz-Schwelle mit $p < 0,01$ gewählt, dieser Umstand wird direkt in den Grafiken deutlich gemacht. Alle gezeigten Fehlerbalken zeigen 95%-Konfidenzintervalle, also das Intervall, in dem mit 95%iger Wahrscheinlichkeit der Mittelwert liegt. Signifikante Unterschiede werden jeweils mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Abwesenheit von Buchstaben zeigt an, dass zwischen keinem der Versauerungsniveaus signifikante Unterschiede beobachtet werden konnten. Die so dargestellten Unterschiede beziehen sich auf den Tukey-HSD *post-hoc* Test mit $p < 0,05$.

1. WACHSTUM: GRÖßEN-UND GEWICHTSENTWICKLUNG

1.1 ÜBERSICHT ÜBER DIE GESAMTVERÄNDERUNG

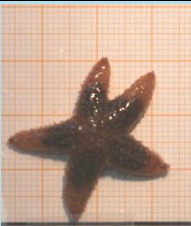
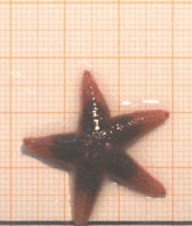
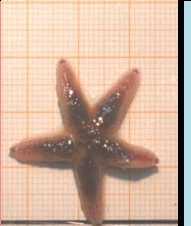
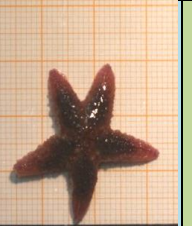
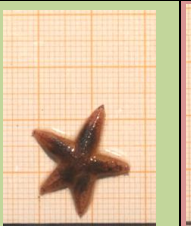
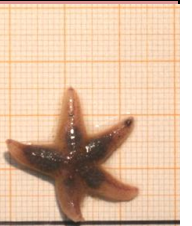
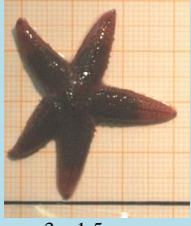
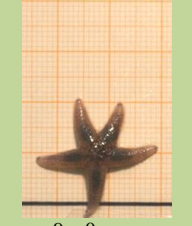
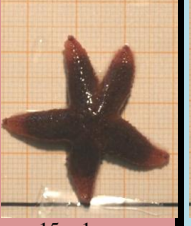
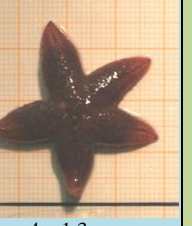
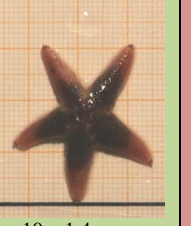
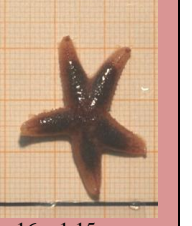


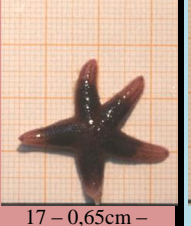
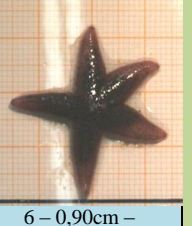


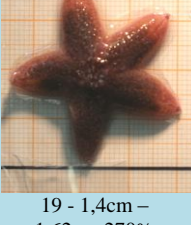
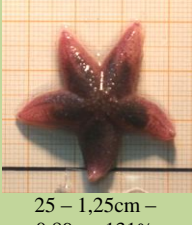


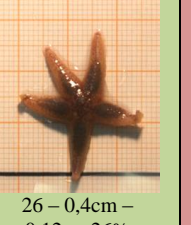
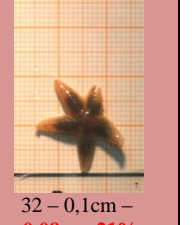

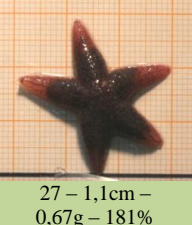
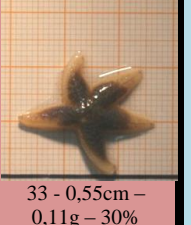
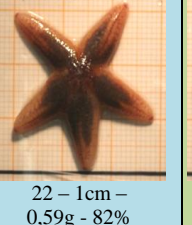
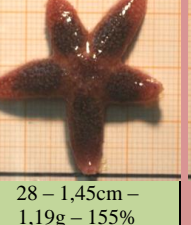
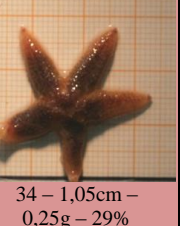
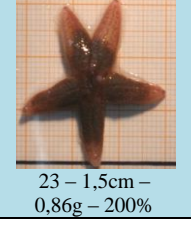




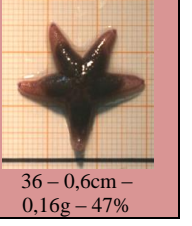
Abb.13 zeigt gibt einen Überblick über die gesamten Wachstumsänderungen, die bis zum Ende des sechswöchigen Versuchszeitraumes beobachtet werden konnten. Die Tiere sind im gleichen Maßstab abgebildet. Details zu Größen-und Gewichtsänderungen finden sich unter den Bildern.

Mortalität trat bei keiner der drei Versauerungs-Behandlungen ein.

Es tritt in **Abb.13** am deutlichsten die große Variabilität der Reaktion auf Ozeanversauerung hervor. Die hier gewählte Anordnung entspricht der Anordnung im Versuch, wobei jeweils drei nebeneinander angeordnete Tiere drei zu Anfang des Versuchs sehr ähnlich großen Tieren entsprechen (vgl. **Abb.9**).

Klare Trends des geringeren Wachstums bei steigender Versauerung wie etwa bei den Individuen 20, 26 und 32 (unten rechts in **Abb.13**) treten etwa bei der Hälfte der Replikate (8 von 18) auf. In 5 von 18 Fällen wuchsen die stark-versauerten Tiere mehr als die des mittleren Versauerungsniveaus, ein Kontrolltier (Individuum Nr.37) blieb im Vergleich zu den Tieren bei weniger versauerten Bedingungen am kleinsten.

Die Variation des Gesamtwachstums reichte von einer Steigerung der Biomasse (**Abb.13**) von einer Zunahme um 379% im Vergleich zur Biomasse bei Versuchsbeginn (Individuum 21 - 690 μatm) über eine Stagnation (0% bei Individuum 51 - 3130 μatm) bis zu einer Gewichtsreduktion um 50% (Individuum 18 - 3130 μatm).

690 μatm	1100 μatm	3130 μatm	690 μatm	1100 μatm	3130 μatm
					
1 - 0,8cm – 0,53 g – 106%	7 - 0,9cm – 0,36g – 80%	13 - 1,2cm – 0,42g – 79%	2 - 0,95cm – 0,29g -58%	8 - 0,2cm – 0,09g – 23%	14 - 0,8cm – 0,37g – 93%
					
3 - 1,5cm – 1,49g – 244%	9 - 0cm – -0,23g - -40%	15 - 1cm – 1,04g – 200%	4 - 1,3cm – 1,32 g – 253%	10 - 1,4cm – 0,71g – 154%	16 - 1,15cm – 0,50g – 100%
					
5 - 1,15cm – 1,21g - 198%	11 - 1,3cm – 1,09g – 191%	17 - 0,65cm – 0,25g – 44%	6 - 0,90cm – 0,59g – 125%	12 - 1,4cm – 1,05g – 269%	18 - 0,45cm – -0,23g - -50%
					
19 - 1,4cm – 1,62g – 270%	25 - 1,25cm – 0,89g – 131%	31 - 0,8cm – 0,50g – 86%	20 - 1,05cm – 0,60g – 150%	26 - 0,4cm – 0,12g – 26%	32 - 0,1cm – -0,09g - -21%
					
21 - 1,95cm – 1,29g – 379%	27 - 1,1cm – 0,67g – 181%	33 - 0,55cm – 0,11g – 30%	22 - 1cm – 0,59g – 82%	28 - 1,45cm – 1,19g – 155%	34 - 1,05cm – 0,25g – 29%
					
23 - 1,5cm – 0,86g – 200%	29 - 1,15cm – 0,52g – 121%	35 - 1,25cm – 0,7g – 194%	24 - 0,95cm – 0,47g – 121%	30 - 0,75cm – 0,39g – 118%	36 - 0,6cm – 0,16g – 47%

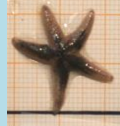
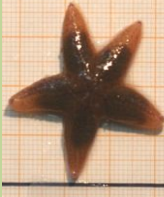
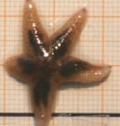


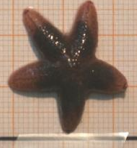
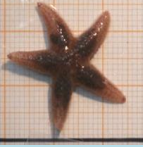

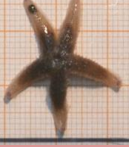



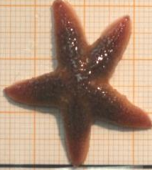
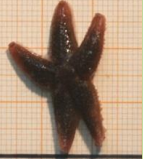


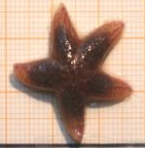

690 μatm	1100 μatm	3130 μatm	690 μatm	1100 μatm	3130 μatm
 37 – 0,1cm – -0,12g - -34%	 43 – 1,6cm – 0,85g – 217%	 49 – 0,65cm – 0,28g – 74%	 38 – 1,15cm – 0,69g – 238%	 44 – -0,1cm – -0,01g - -3%	 50 – 0,75cm – 0,49g – 149%
 39 – 0,65cm – 0,33g – 110%	 45 – 1,35cm – 0,77g – 208%	 51 – 0,3cm – 0g – 0%	 40 – 1,45cm – 0,67g – 168%	 46 – 0,75cm – 0,26g – 68%	 52 – -0,1cm – -0,10g - -31%
 41 – 1,25cm – 1,05g – 276%	 47 – 0,70cm – 0,65g – 120%	 53 – -0,2cm – -0,15g - -42%	 42 – 0,75cm – 0,43g – 154%	 48 – 1,05cm – 0,91g – 314%	 54 – 0,3cm – -0,01g - -4%

Abb.13 Individuen nach 49 Tagen unter verschiedenen $p\text{CO}_2$ – Behandlungen (über den Spalten). Beschriftung unter den Bildern in folgender Reihenfolge: Individuennummer ; Größenzunahme (in cm) ; Gewichtszunahme (in g).

Größenvergleich durch Millimeterpapier-Untergrund (Fett gedruckte Kästchen=1cm)

Zur Veranschaulichung sind in **Abb.14** drei Individuen dargestellt, die den durchschnittlichen Größenzuwachs bei den drei Behandlungen am deutlichsten wiedergeben.


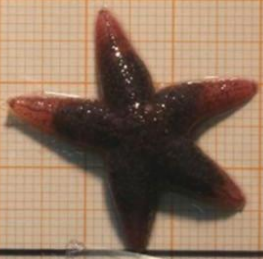

690 μatm	1100 μatm	3130 μatm
		
Durchschnittliche Größe: 3,22 cm	3,05 cm	2,71 cm
Durchschnittlicher Größenzuwachs: 52%	44%	30%

Abb.14

Repräsentative Tiere für das durchschnittliche Größenzuwachs der drei Versuchsbedingungen.

%-Zahlen als Änderung der Größe im Vergleich zur Ursprungs-Größe.

1.2 GEWICHTSVERÄNDERUNG

Die Gewichtsänderungen werden hier als prozentuale Änderung der Biomasse angegeben. Für einen Überblick über die Entwicklung des Gewichts in g siehe **Anhang 1.1** (**Abb.45-Abb.47**). Zu Beginn des Experiments waren die Seesterne der drei Behandlungen nicht signifikant unterschiedlich schwer ($F=0,83$; $p=0,92$).

Nach sechs Versuchswochen wurde ein hoch-signifikanter Unterschied der Gesamtgewichtsveränderung zwischen der 690 und 3130 μatm -Behandlung beobachtet (**Abb.15**). Bei Kontrollbedingungen erhöhten die Seesterne ihr Ausgangsgewicht im Mittel um 172%, während die Tiere im stark versauerten Milieu nur ein mittleres Plus von 54% Steigerung zum Ursprungsgewicht erreichten. Tiere unter Normalbedingungen konnten somit ungefähr dreimal mehr Biomasse in der gleichen Zeit aufbauen als die Tiere unter versauerten Bedingungen. Der Unterschied zwischen den 690- und 1100 μatm -Bedingungen entspricht weniger als einer Verdoppelung des CO_2 s, während der Unterschied zwischen 1100 und 3130 μatm einer knappen Verdreifachung entspricht. Proportional ist somit die Abnahme von versauerten zu stark versauerten Bedingungen geringer als diejenige zwischen der Kontroll- und der 1100 μatm -Behandlung.

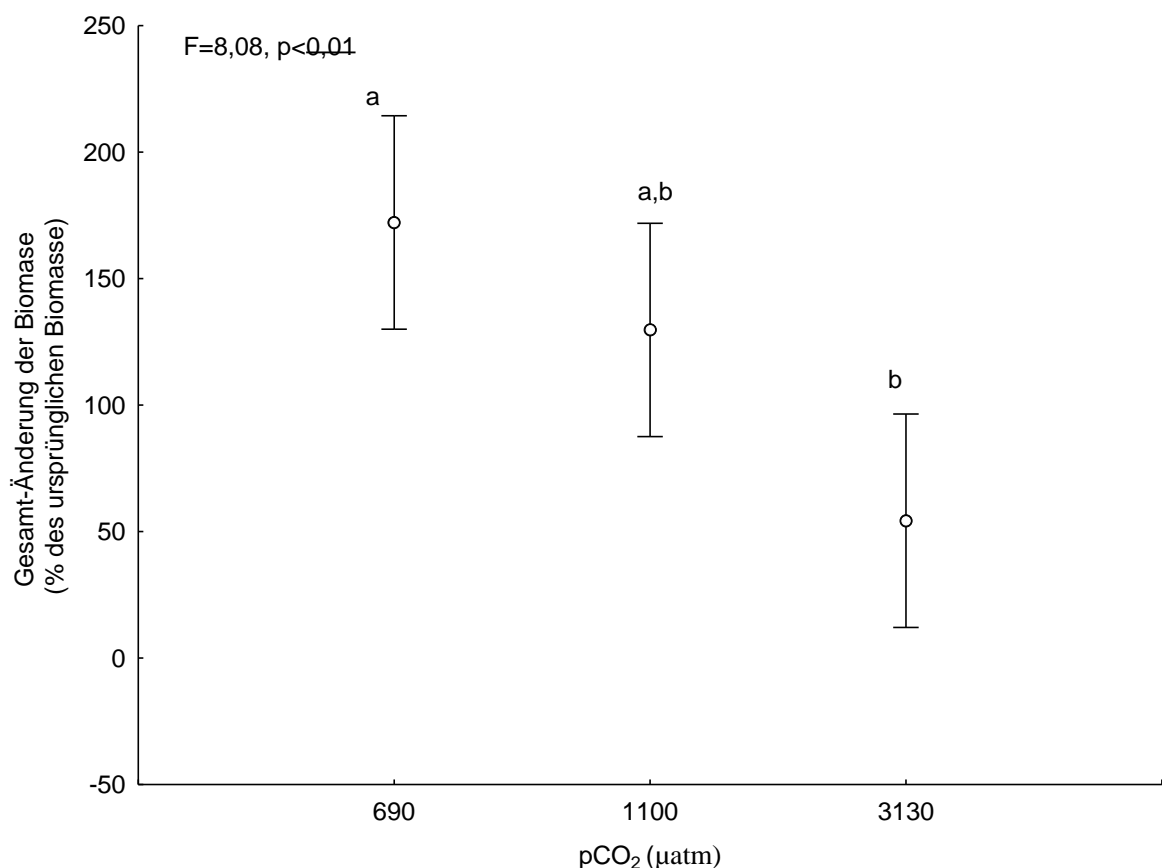


Abb.15 Veränderung der Biomasse im Verhältnis zum Ursprungsgewicht. Die gezeigten Änderungen beziehen sich auf den gesamten Versuchszeitraum (6 Wochen).

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Die Entwicklung der Biomasse wird in **Abb.16** dargestellt, wobei die Zunahme der Biomasse bei allen Behandlungen ungefähr linear ansteigt. Bei den Kontrolltieren konnte eine höhere Biomassensteigerung seit der ersten Woche beobachtet werden, wobei die Werte für die Tiere der 1100 μatm -Behandlung während der ganzen Versuchszeit etwa mittlere Werte zwischen denen der Kontrolltiere und denen der 3130 μatm -Behandlung aufzeigten. Ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und der 3130 μatm -Behandlung wurde erst nach 4 Wochen unter Versuchsbedingungen erreicht, ein signifikanter Unterschied zwischen allen drei Behandlungen erst nach 6 Wochen.

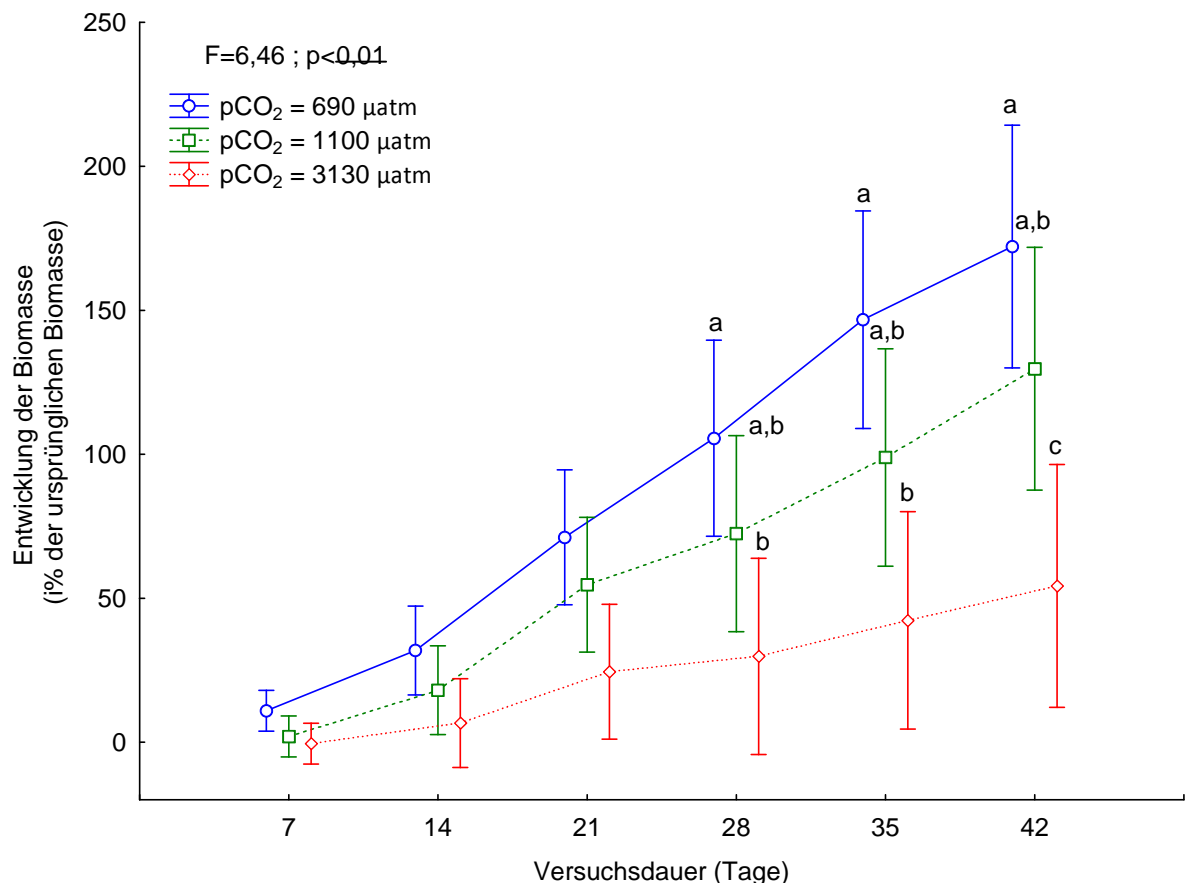


Abb.16 Biomassenveränderung über den Versuchszeitraum. Die Biomasse steht für jede Woche im Verhältnis zum Ursprungsgewicht bei Versuchsbeginn. Die Werte für F und p beziehen sich auf die Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von $p\text{CO}_2$ und Versuchsdauer.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Abb.17 zeigt die Biomassenänderung pro Woche – also das Verhältnis zur Biomasse der jeweiligen Vorwoche. Aufgrund großer Variabilität zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungen, wobei die Zuwachsraten für die Kontrolltiere jeweils am höchsten und die der 3130 μatm -Tiere am geringsten ausfielen. Es ist ein Anstieg der Zuwachsraten bei allen Behandlungen von der ersten bis zur dritten Wochen festzustellen. Danach nahm die wöchentliche Gewichtszunahme wieder ab, blieb jedoch über den Werten der ersten Woche. Hier wird auch erkenntlich, dass in der letzten Versuchswoche der Zuwachs bei den Tieren bei 1100 μatm höher ausfiel als bei den Kontroll-

Tieren. Diese Ausnahme tritt in der Entwicklung der Biomasse (**Abb.16**) kaum zu Tage. Die wöchentlichen Zuwachsraten änderten sich (bis auf die letzte Woche) vom Verhältnis zueinander nur wenig, zumindest kann dies für die Kontrolle und die stark versauerten Bedingungen festgestellt werden: Die Kontrolltiere nahmen dabei um meist 15%-Punkte mehr Biomasse pro Woche zu als die Tiere bei 3130 μatm .

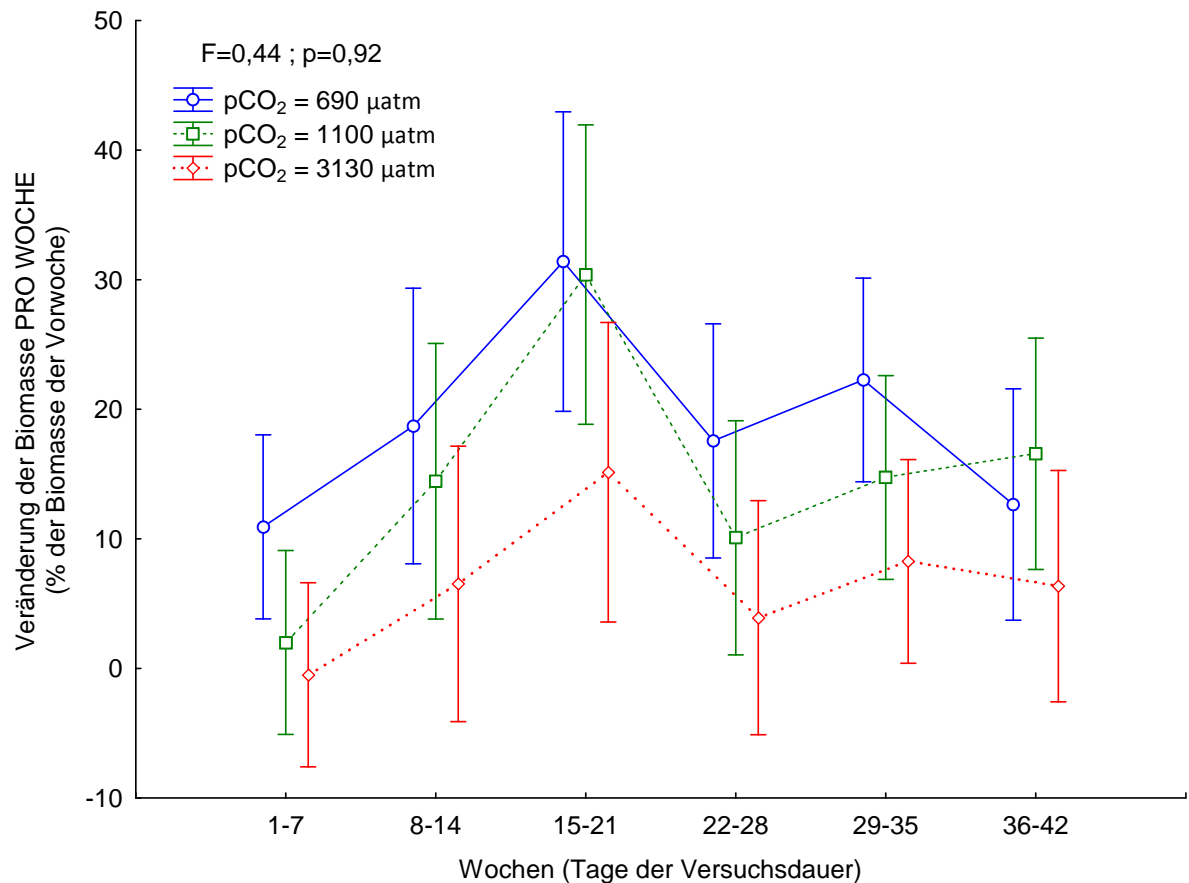


Abb.17 Veränderung der Biomasse pro Woche im Verhältnis zur Vorwoche.

Die Werte für F und p beziehen sich auf die Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von $p\text{CO}_2$ und Versuchsdauer.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

1.3 GRÖßENVERÄNDERUNG

Die im Folgenden gezeigten Größenunterschiede der drei $p\text{CO}_2$ -Niveaus decken sich weitestgehend mit den Befunden für die Gewichtsentwicklung. Es werden auch hier Änderungen in Prozent angegeben. Für eine Einsicht in Grafiken mit Angaben in cm siehe **Anhang 6.2 (Abb.48 - Abb.50)**. Die Tiere der drei Behandlungen waren bei Versuchsbeginn nicht signifikant unterschiedlich groß ($F=17,76$; $p=0,681$)

Für die gesamte Größenentwicklung über die Versuchszeit (**Abb.18**) wurde wie beim Gewicht ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den $3130 \mu\text{atm}$ -Tieren gefunden, jedoch keine signifikanten Unterschiede zur mittleren Versauerungsbehandlung. Es zeigt sich hier der grundsätzlich gleiche Trend wie bei den Beobachtungen für das Gewicht mit einer linear-ähnlichen Abnahme des Größenwachstums bei steigenden $p\text{CO}_2$ -Werten. Die Unterschiede bei der Größenmessung sind weniger ausgeprägt als bei den Gewichtsbestimmungen. Der Größenzuwachs fiel bei den Kontrolltieren mit im Mittel mit 52% fast doppelt so hoch aus wie bei den Tieren unter stark versauerten Bedingungen (im Mittel 30%). Der Unterschied des mittleren Größenzuwachses zwischen den Versauerungsniveaus fällt hier mit dem Faktor < 2 deutlich geringer aus als der Unterschied um den Faktor 3 bei den mittleren Gewichtszunahmen (**Abb.15**).

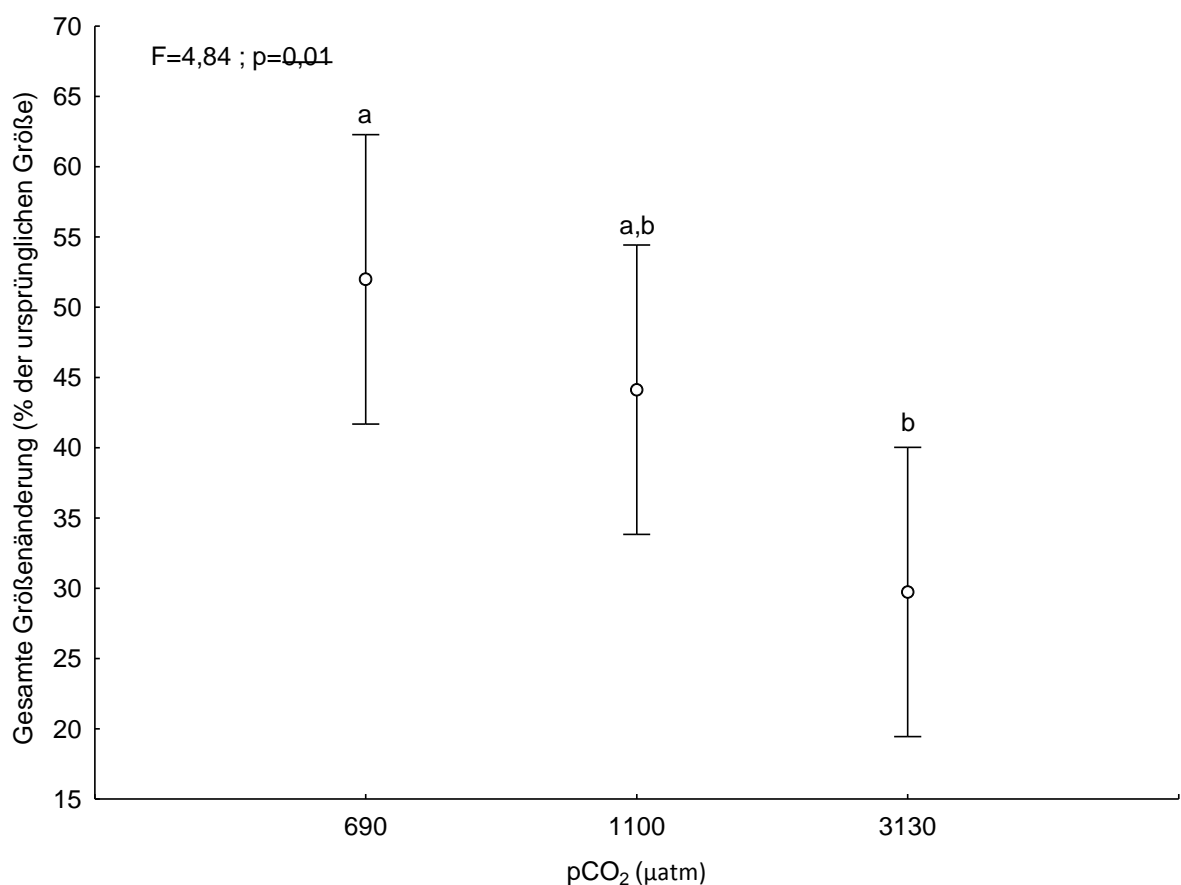


Abb.18 Veränderung der Größe im Verhältnis zur Ursprungsgröße über den gesamten Versuchszeitraum von 6 Wochen.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Für die Entwicklung der Größe lässt sich der gleiche Trend wie bei der Gewichtsentwicklung für die einzelnen Versauerungsniveaus feststellen (**Abb.19**), wobei die Zuwachsraten bei geringerem $p\text{CO}_2$ jeweils deutlich höher liegen als bei höherem $p\text{CO}_2$. Dieser Trend ändert sich auch bei der Größe über die ganzen 6 Wochen nicht. Die Tiere entwickeln sich sowohl in Gewicht als auch Größe über die Versuchsdauer immer weiter auseinander. Signifikante Unterschiede konnten für die Größe erst am Ende der 6 Wochen und auch nur zwischen den Kontroll- und 3130 μatm -Tieren festgestellt werden.

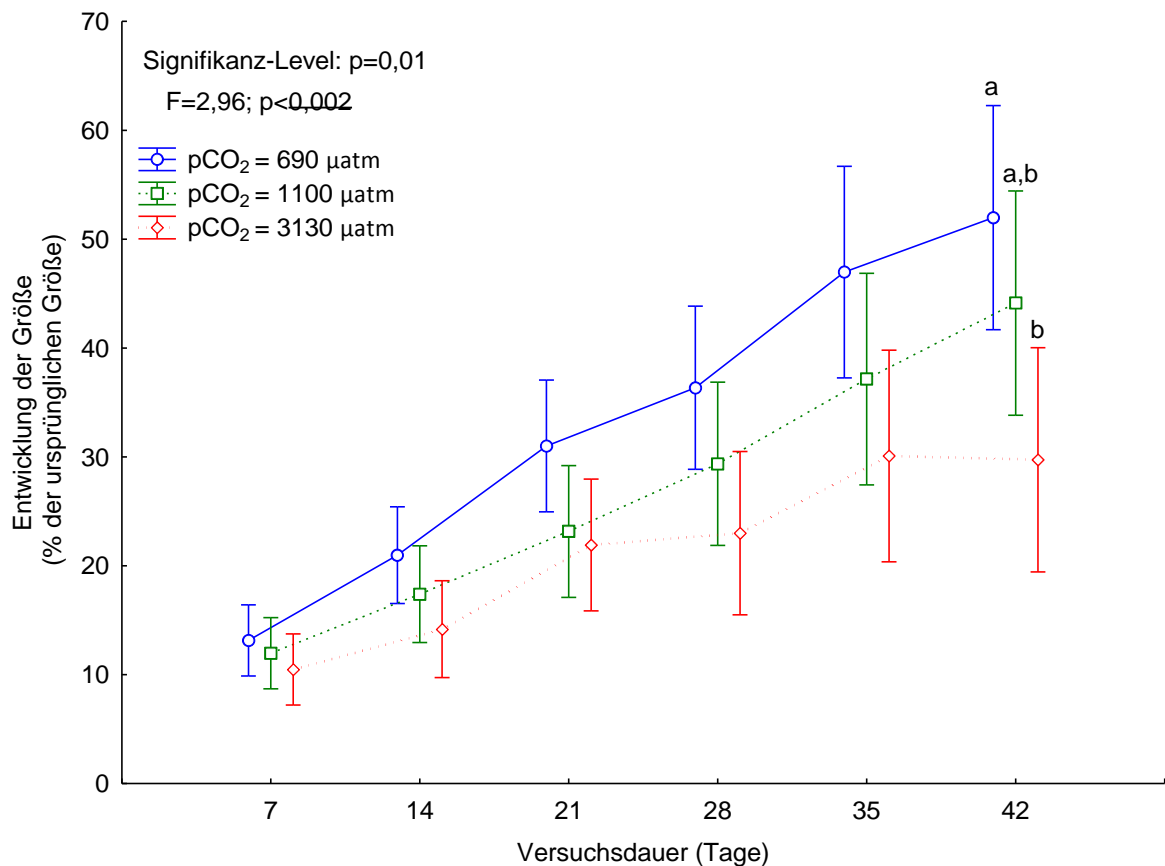


Abb.19 Entwicklung der Größe über den Versuchszeitraum von 6 Wochen. Die Größe steht jeweils im Verhältnis zur Ausgangsgröße. Die Werte für F und p beziehen sich auf die Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von $p\text{CO}_2$ und Versuchsdauer.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Für die Größenänderung pro Woche wurden abnehmende Raten des Größenwachstums gefunden (**Abb.20**). Die Unterschiede zwischen dem wöchentlichen Größenwachstum der drei Versauerungsniveaus unterlagen größerer Variabilität und überschnitten sich mehr als bei der wöchentlichen Gewichtsveränderung (**Abb.17**). Mit fortschreitender Versuchswoche nahm das Größenwachstum bei allen $p\text{CO}_2$ -Behandlungen ab und war in der letzten Versuchswoche etwa halb so groß wie in der ersten Woche. Obwohl sich die Entwicklungsverläufe der drei Tiergruppen nicht signifikant unterschieden, ist doch die Abnahme der Wachstumsraten bei 690 μatm in Woche 4 bzw.

Woche 6 signifikant geringer als in Woche 1; für die Tiere bei 3130 μatm liegen signifikante Unterschiede zwischen Woche 1 und Woche 2 bzw. Woche 6 vor.

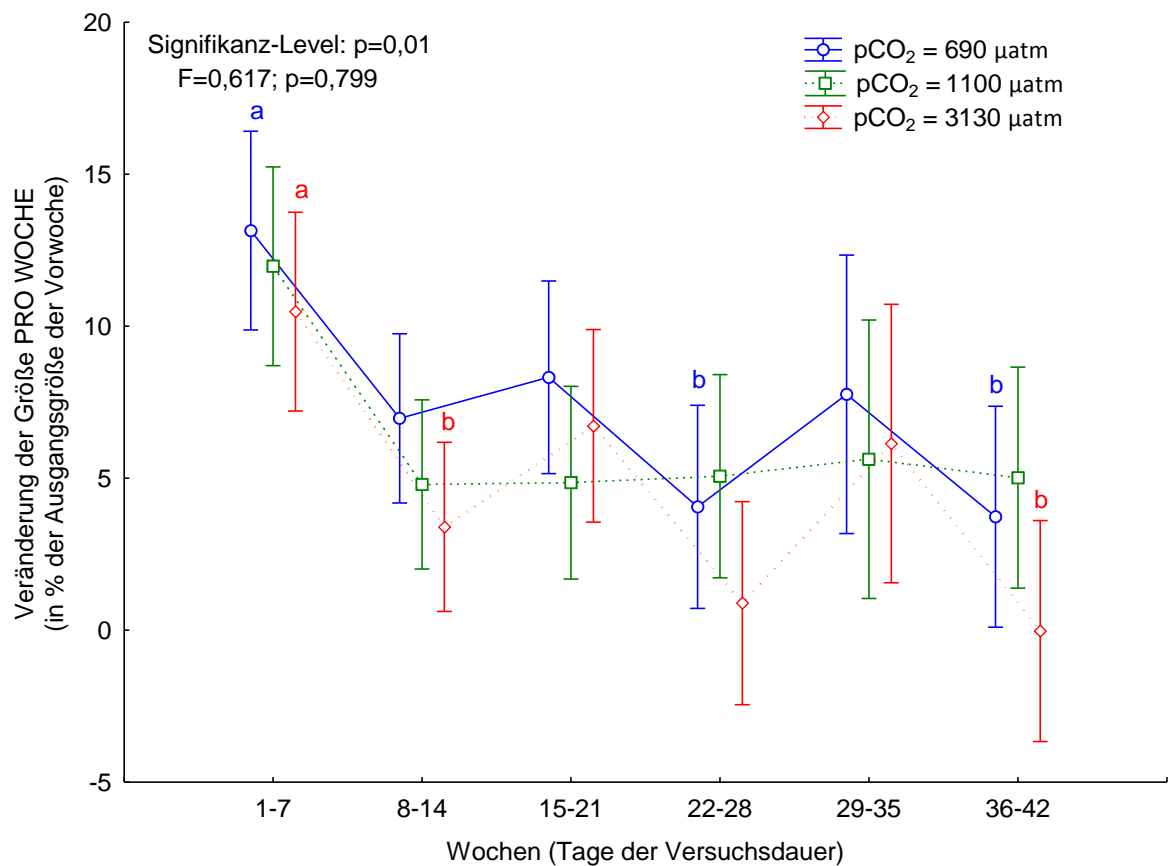


Abb.20 Größenveränderung pro Woche im Verhältnis zur Vorwoche für jede der 6 Versuchswochen. Die Werte für F und p beziehen sich auf die Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von pCO_2 und Versuchsdauer.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

2. FRAß

Die Menge an Anzahl der gefressenen Muscheln unterschied sich (wenn auch nicht-signifikant) in den Fraßversuchen bereits von der ersten Woche an. Mit zunehmender Größe wurde dieser Unterschied geringer, da die größeren Tiere proportional weniger, aber dafür deutlich größere und damit energiereichere Muscheln fraßen. Umgerechnet auf das Trockengewicht von *Mytilus edulis* konnte für den gesamten Zeitraum ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrolltieren und denjenigen bei 3130 μatm gefunden werden (**Abb.21**). Die mittlere Versauerungsbehandlung unterschied sich von den anderen Behandlungen nicht signifikant. Im Mittel fraßen die Kontrolltiere etwas mehr als doppelt so viel Muschel-Trockengewicht wie die Tiere bei den höchsten CO_2 -Bedingungen.

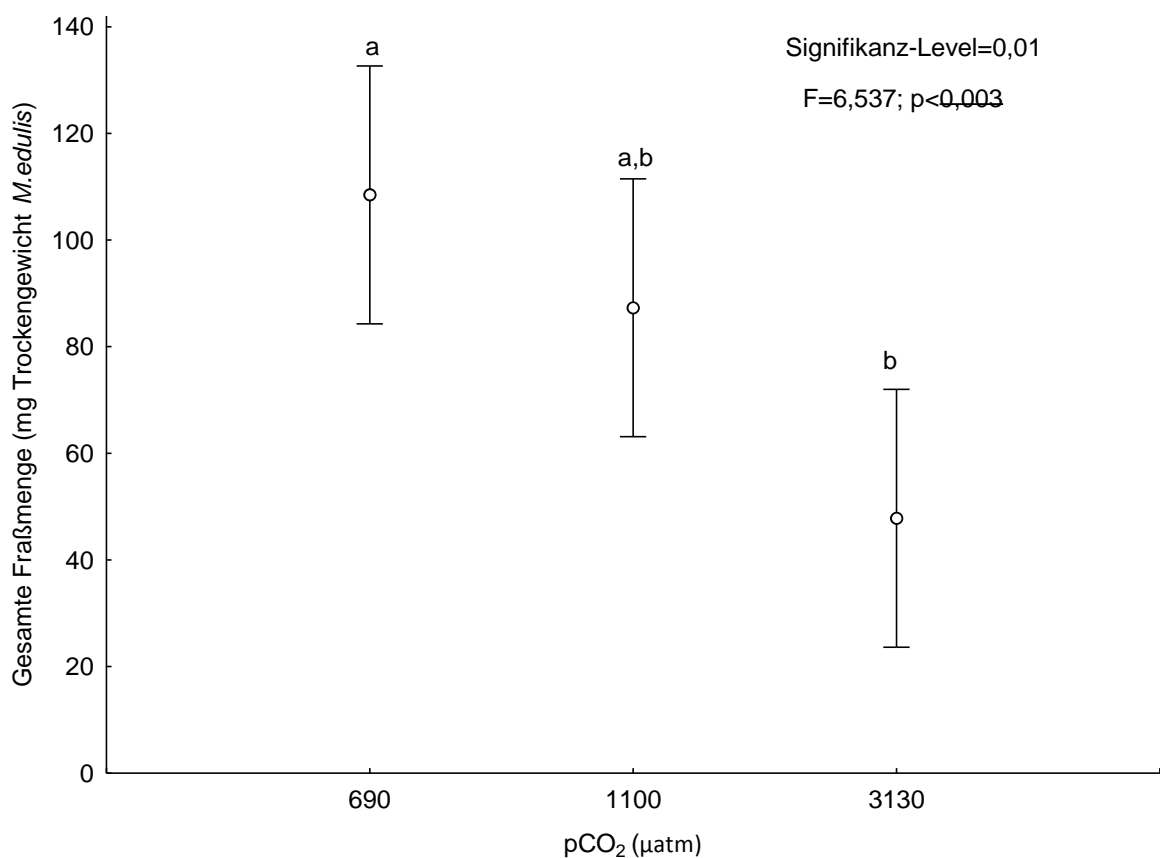


Abb.21 Unterschiede der Gesamtfraßmenge (in mg *M. edulis* Trockengewicht), die bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Werten über den sechswöchigen Versuchszeitraum gefressen wurden.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Die Entwicklung der gefressenen Masse an Muscheln (**Abb.22**) wurde für die drei Behandlungen als signifikant unterschiedlich befunden. Nach fünf Wochen unterschied sich die Gesamtfraßmenge signifikant zwischen der Kontrolle und der 3130 μatm -Behandlung. Nach sechs Wochen waren sowohl die 690 als auch die 1100 μatm -Behandlung signifikant unterschiedlich von der hochversauerten Behandlung. Wie bei Größen- und Gewichtsentwicklung zeigen sich auch für den

Fraß über den Versuchszeitraum immer deutlichere Divergenzen zwischen den Behandlungen, wobei zu jeder Zeit Tiere, die unter hohen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen gehalten wurden, weniger fraßen als Tiere bei weniger versauerten Bedingungen. Ab der dritten Woche wichen die Gesamtfraßmengen bei 690 und 1100 μatm noch etwas deutlicher von den Tieren bei 3130 μatm ab als zuvor.

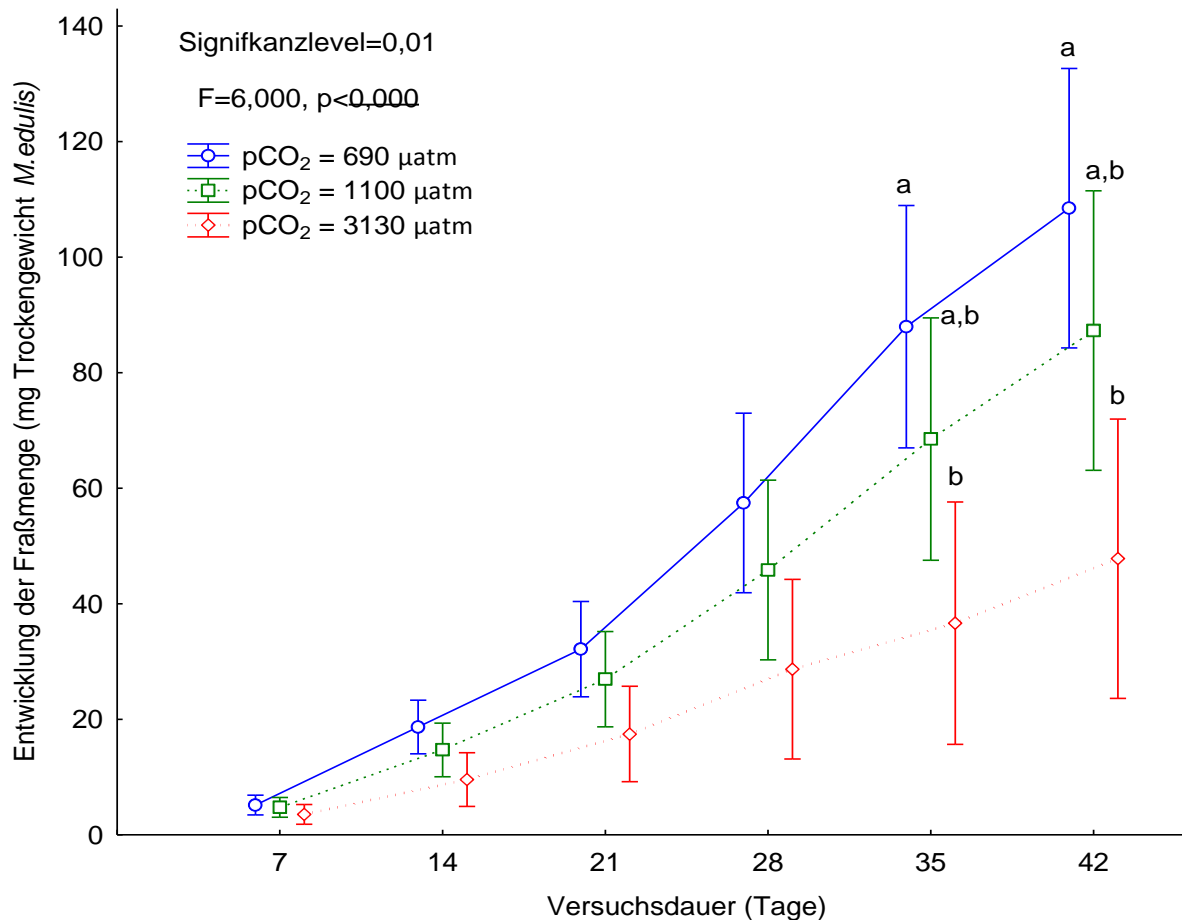


Abb.22 Entwicklung der Fraßmenge (in mg *M. edulis* Trockengewicht) über den sechswöchigen Versuchszeitraum. Die Werte für F und p beziehen sich auf Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von $p\text{CO}_2$ und Versuchsdauer.

Bei den Fraßraten pro Woche zeigte sich, dass die drei Verläufe signifikant unterschiedlich voneinander sind (**Abb.23**), wobei gilt, dass bei höheren $p\text{CO}_2$ Werten pro Woche weniger gefressen wurde als bei geringeren $p\text{CO}_2$ -Werten. Ein Unterschied zwischen den Behandlungen lag nur in Woche 5 vor: Hier fraßen Tiere bei 3130 μatm signifikant weniger pro Woche als Tiere der weniger versauerten Bedingungen. In Versuchswoche 6 sind die Fraßraten bei 690 und 1100 μatm deutlich reduziert und unterscheiden sich nicht mehr (wie in Woche 5) von den Fraßraten der Seesterne der 3130 μatm -Behandlung.

Signifikante Unterschiede innerhalb der Entwicklung der einzelnen Behandlungen konnten für 690 und 1100 μatm festgestellt werden. Die deutlichsten Unterschiede sind zwischen Woche 1 und Woche 4 bzw. 5 zu erkennen.

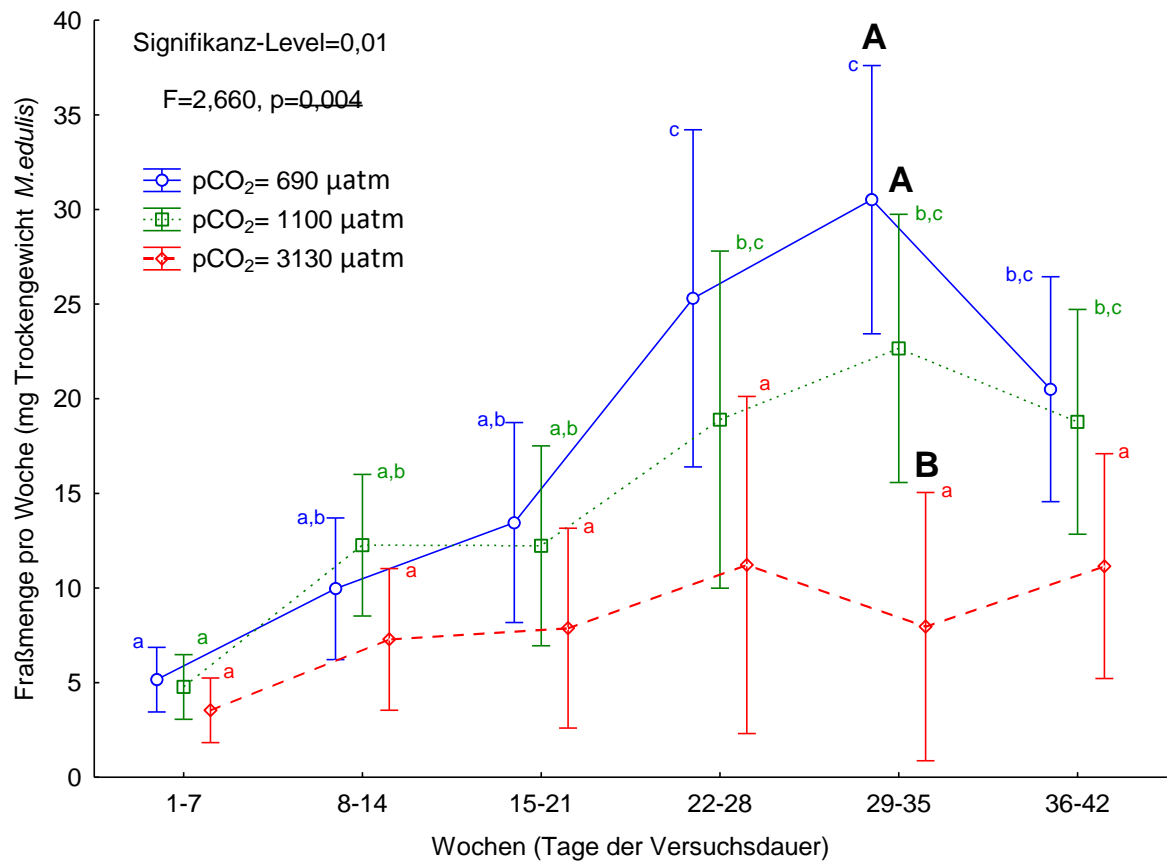


Abb.23 Unterschiede der Fraßmenge pro Woche (in mg *M. edulis* Trockengewicht) für den Versuchszeitraum. Die Werte für F und p beziehen sich auf die Unterschiedlichkeit der Verläufe der drei Behandlungen, also auf die Interaktion von pCO₂ und Versuchsdauer.

Mittelwerte ± 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

[Hier: Farbige Kleinbuchstaben zeigen statistisch-signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung, schwarze Großbuchstaben Unterschiede zwischen den Behandlungen].

Abschließend ist bei den Ergebnissen zum Fraß auf die Unterschiede zwischen den pCO₂-Behandlungen bezüglich des kompletten Ausbleibens des Fraßes hinzuweisen. **Abb.24** zeigt die gesamte Anzahl von Fällen pro Behandlung, in denen bei einem Tier in einer Woche kein Fraß festgestellt werden konnte. Hier steigt der Trend hungernder Tiere bei erhöhten pCO₂-Bedingungen kontinuierlich an. Mehr als doppelt so oft wurde bis zur letzten Woche ausbleibender Fraß bei den Tieren bei 3130 µatm festgestellt wie bei den Kontrolltieren. Wie auch bei den oben vorgestellten Ergebnissen zum Fraßverhalten zeichnet sich hier ab, dass die Tiere bei 1100 µatm etwa mittlere Werte zwischen den hohen Versauerungsbedingungen und den Kontrolltieren aufweisen.

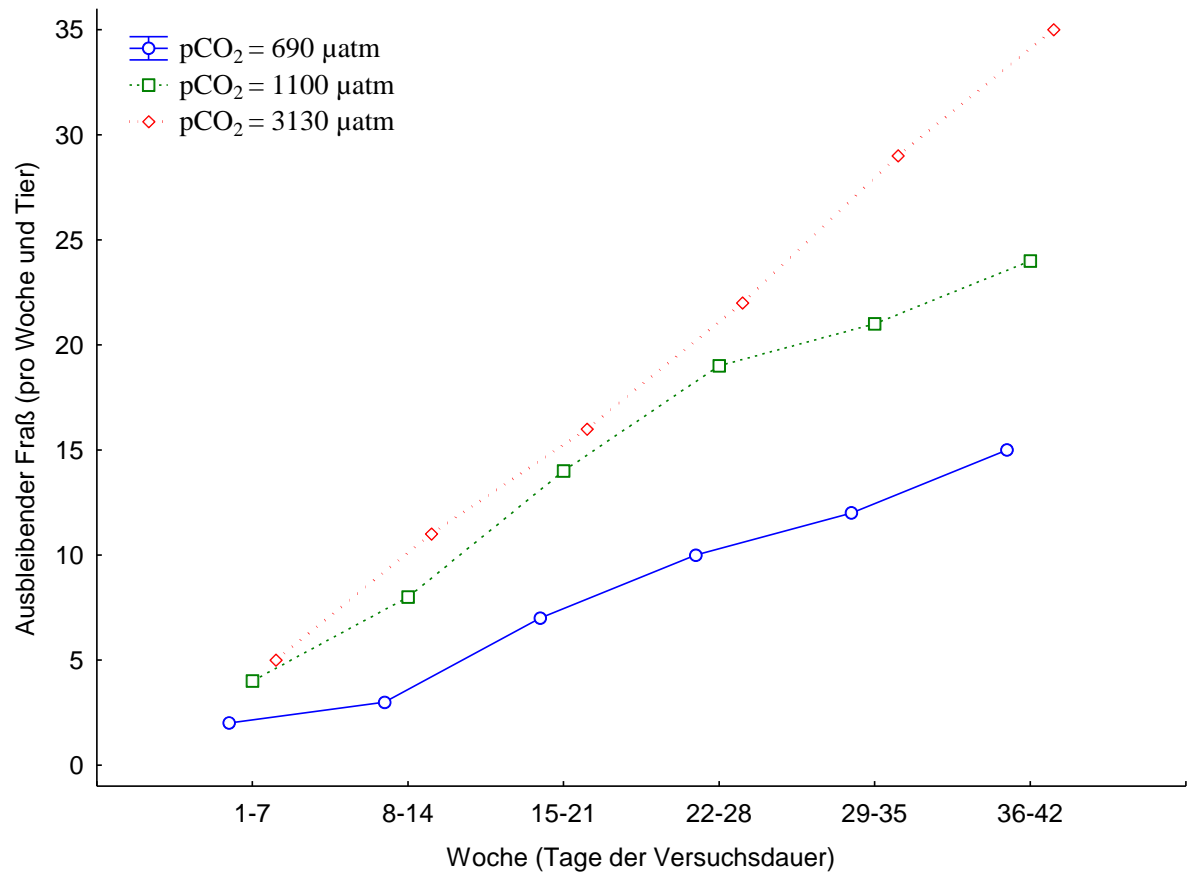


Abb.24 Entwicklung des ausbleibenden Fraßes. Addierten wurden hier Fälle, in denen ein Individuum in einer Woche keine Muscheln fraß.

3. AKTIVITÄTSMESSUNGEN

Zur Aktivitätsbeschreibung wurden Umkehrversuche nach Kowalski (1955) angewendet (**Methoden 4.2.3**). Der Übersicht halber und um eine bessere Vergleichbarkeit zu Kowalskis Daten zu ermöglichen werden die gemessenen Daten in **Abb.25** als Reindaten dargestellt. In **Abb.26** erfolgt eine statistische Auswertung, für die die gemessenen Werte größenstandardisiert wurden.

In **Abb.25** zeigt sich, dass sich die Latenzzeit (Leere Balken: Zeit bis zum Beginn eines Umkehrversuchs) nach 3 Versuchswochen unter den Behandlungen nur geringfügig unterscheidet. Nach sechs Wochen zeigten sich diese Unterschiede prägnanter, wobei die Tiere bei 3130 μatm schneller mit der Umkehrung begannen. Die Latenz-Zeit macht in allen Fällen etwa die Hälfte der gesamten Umkehrzeit (gestreifte Balken) aus. Die Daten für die Umkehrzeit weisen ebenfalls auf den Trend hin, dass die Aktivität der Tiere bei stärker versauerten Bedingungen etwas größer ist als bei geringerer Versauerung.

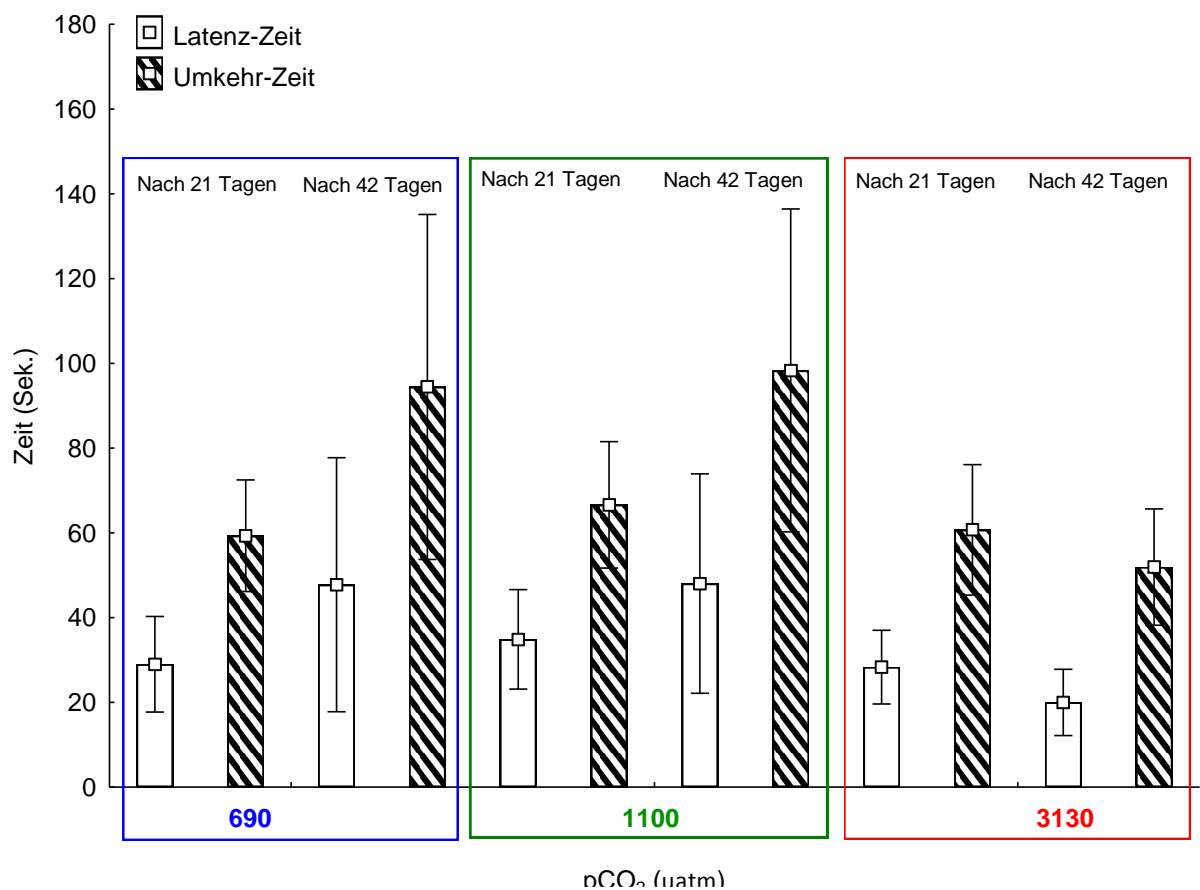


Abb.25 Aktivitäts-Unterschiede von *A. rubens* bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen. Angaben als Dauer der Zeit, die die Individuen brauchten, um sich von ‚Rückenlage‘ (auf der aboralen Seite liegend) wieder in ‚Normallage‘ (auf der oralen Seite liegend) zu bringen.

Die Latenz-Zeit (leere Balken) zeigt die Zeit an, die das Tier zum Beginn des Umkehrversuches braucht, Umkehr-Zeiten (gestreifte Balken) zeigen die Gesamtdauer an, die das Tier für den Umdrehprozess benötigt.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

Abb.26 zeigt einen Vergleich der standardisierten Umkehrzeiten, die für die statistische Auswertung genutzt wurde. Eine Standardisierung ist hier nötig, da durch Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Ergebnisse zur Aktivitätsmessung) gezeigt werden konnte, dass große Tiere proportional länger für die Umkehrung brauchen als kleine Tiere. Dazu wurden die jeweils gemessenen Werte durch die Umkehrzeit gleich großer Förde-Referenztiere geteilt und logarithmiert (**Methoden 4.2.3**).

In **Abb.26** zeigt sich im Vergleich zu den Daten in **Abb.25**, dass das beobachtbare Muster der Aktivitätsunterschiede zwischen den Behandlungen ähnlich ist. In Woche 3 (**A**) bestehen keine großen Unterschiede der Aktivität. In den Messungen von Woche 6 (**B**) sind die Tiere der höchsten Versauerungsbehandlung proportional zu gleichgroßen Referenz-Tieren schneller wieder in der ursprünglichen Position – sie verfügen somit über eine leicht gesteigerte Aktivität. Aufgrund der großen Variabilität sind diese Unterschiede in beiden Wochen nicht signifikant.

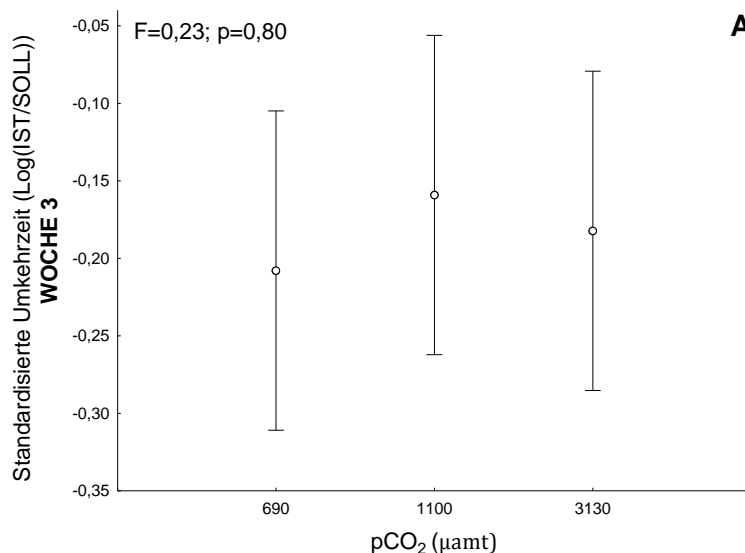
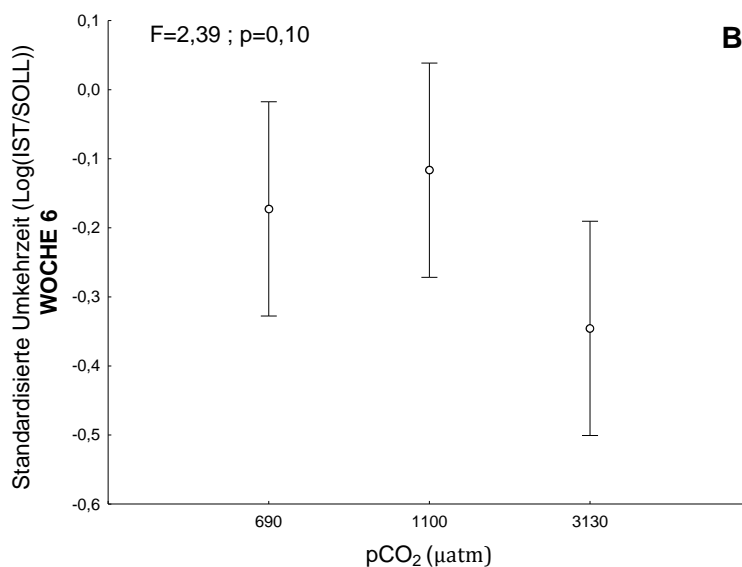
**A**

Abb.26 Aktivität von *A. rubens* bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen, dargestellt als standardisierte Umkehrgeschwindigkeit. Die Umkehrzeit wurde hier gegen gleichgroße Referenz-Tiere aus der Förde verrechnet (und logarithmiert). Geringe Werte auf der y-Achse bedeuten eine verhältnismäßig schnellere Umkehrzeit, also eine höhere Aktivität.

A Aktivität nach 3 Wochen

B Aktivität nach 6 Wochen

Mittelwerte \pm 95% - Konfidenzintervalle.

**B**

4. METABOLISCHE UNTERSUCHUNGEN

Als Grundlage für die Auswertung des Metabolismus wurden die Ammoniumexkretion und die Respirationsraten der Seesterne verglichen (siehe [4.1](#)). Darauf aufbauend wurden diese Raten ins Verhältnis zur aufgenommenen Energie und der aufgebauten Biomasse gesetzt (siehe [4.4](#)), um Aussagen über potentielle Wachstumsfähigkeit und die Energieeffizienz der Tiere bei Ozeanversauerung treffen zu können.

4.1 AMMONIUM (NH_4^+)-EXKRETION

Für den Vergleich der Ammoniumexkretion wurden nur gleich große Tiere verwendet um Größenartefakte bei der Interpretation der Messwerte zu vermeiden. In diesem Fall waren die verwendeten Tiere der verschiedenen Behandlungen nicht signifikant unterschiedlich schwer (siehe **Anhang 4.**). Die Ergebnisse für diese eingeschränkte Individuenzahl ($N=14_{690\mu\text{atm}}; 15_{1120\mu\text{atm}}; 13_{3130\mu\text{atm}}$) zeigen, wenn auch nicht signifikant, bei zunehmend versauerten Bedingungen eine Zunahme der Exkretionsaktivität (**Abb.27**) mit steigendem $p\text{CO}_2$. Die Exkretionsraten pro g Körpergewicht lagen bei den Tieren der höchsten Versauerungsbedingungen im Mittel um mehr als 40% höher als die Raten der Kontrolltiere.

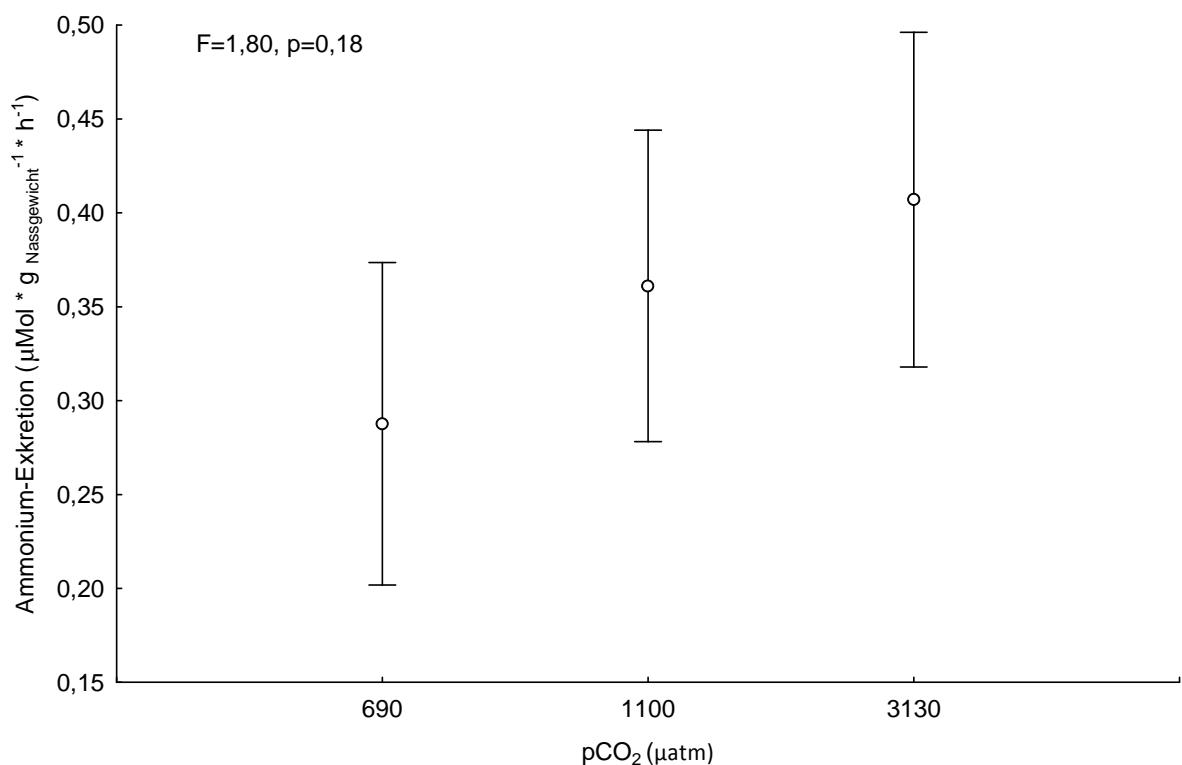


Abb.27 Exkretionsraten von *A. rubens* bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen in μMol pro g Nassgewicht und Stunde. Die Messungen wurden nach 6 Wochen unter Versuchsbedingungen durchgeführt.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

4.2. RESPIRATIONSMESSUNGEN

Für die Respiationsvergleiche wurden ebenfalls nur gleichgroße Tiere (siehe **Anhang 4.**) verwendet. Da im Rahmen der Respiationsmessungen besonders kleine Tiere aufgrund unverlässlicher Messwerte nicht ausgewertet werden konnten, ergab sich für die gezeigten Werte eine Replikation von $N = 13_{690\mu\text{atm}}$, $14_{1120\mu\text{atm}}$ und $13_{3130\mu\text{atm}}$ (siehe **Methodendiskussion**).

Bei den Respiationsraten wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Tieren bei 690 und 1100 μatm und den Tieren der stark versauerten Bedingungen gefunden (**Abb.28**). Im Gegensatz zu den Exkretionsmessungen wurden hier die höchsten Werte bei 1100 μatm beobachtet, wobei die bei diesen Bedingungen gehaltenen Tiere etwa doppelt so viel atmeten wie die Tiere bei 3130 μatm .

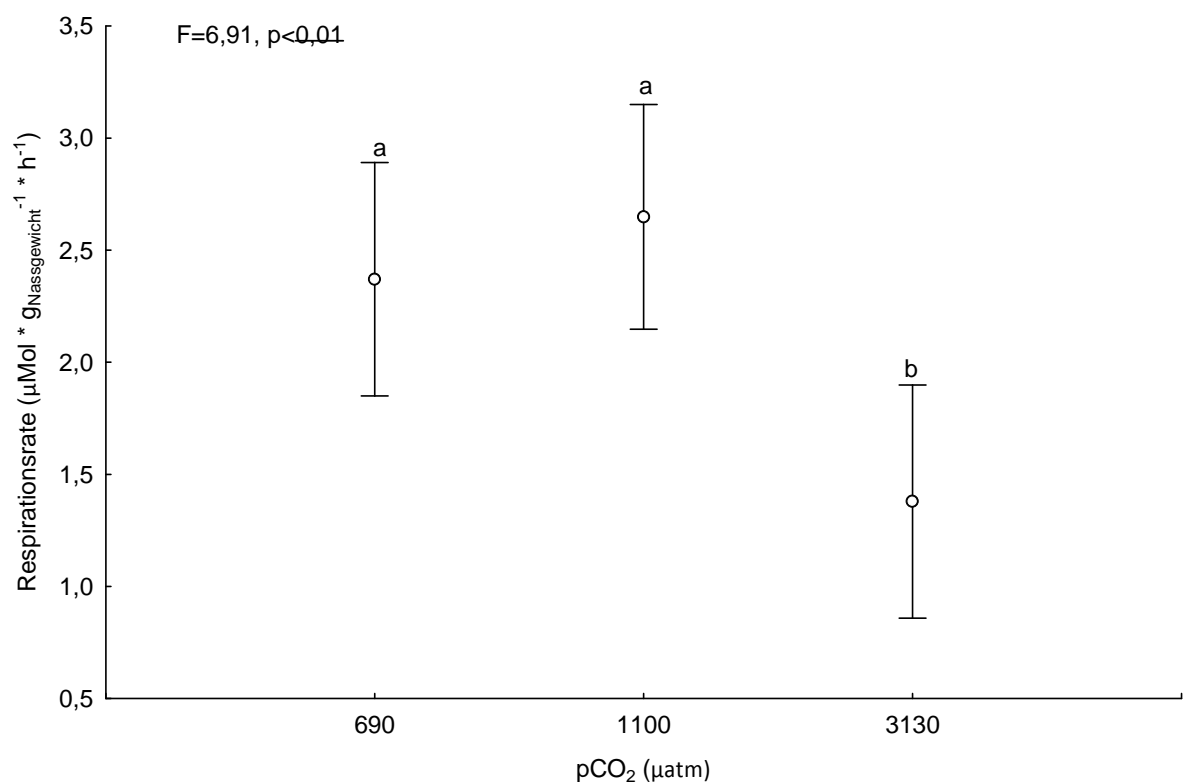


Abb.28 Respiationsraten von *A. rubens* bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen in μMol pro g Nassgewicht und Stunde. Die Messungen wurden nach 6 Wochen unter Versuchsbedingungen durchgeführt.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

4.3 VERHÄLTNIS VON SAUERSTOFFAUFNAHME ZUR EXKRETION (O:N-VERHÄLTNIS)

Um eventuelle Größenartefakte zu vermeiden, wurden für das Verhältnis von Sauerstoff-Aufnahme zu Ammonium-Exkretion (O:N-Verhältnis) wie bereits zuvor nur die Tiere miteinander verglichen, die keinen signifikanten Unterschiede im Gewicht zwischen den $p\text{CO}_2$ -Niveaus aufwiesen (siehe **Anhang 4.**). Für die Feststellung des O:N-Verhältnisses wurden hier die Werte der Respiration durch die Werte der Exkretion geteilt.

Es konnte für das O:N-Verhältnis ein signifikanter Unterschied zwischen den Tieren bei 3130 μatm und bei 1100 μatm festgestellt werden, wobei die Seesterne bei 1100 μatm ein nahezu dreimal so hohes O:N-Verhältnis aufweisen wie die Tiere bei 3130 μatm (**Abb.29**). Ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrolle und 3130 μatm liegt hier nicht vor.

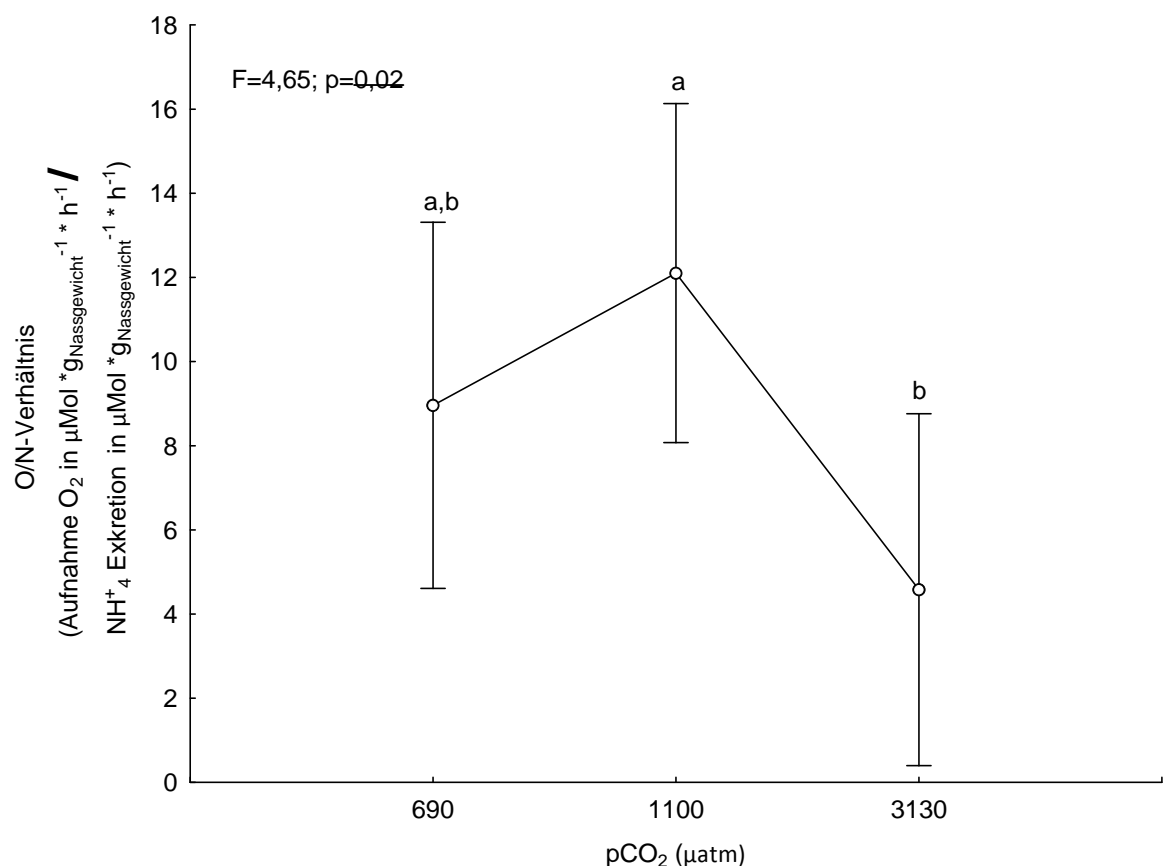


Abb.29 Das Verhältnis von Sauerstoff-Aufnahme zu Ammonium-Exkretion (O:N-Verhältnis) von *A. rubens* bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen. Die Messungen wurden nach 6 Wochen unter Versuchsbedingungen durchgeführt.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

4.4 SCOPE FOR GROWTH, ENERGIEEFFIZIENZ UND VERGLEICH DER ENERGIE-NUTZUNGSBILANZ

Bevor eine Aussage über die Effizienz der Energieumsetzung getroffen werden konnte, wurde die Menge der aufgenommenen Muschelmasse in deren Energiewert umgerechnet. Um einen Wert für die Energie zu erhalten, die den Tieren tatsächlich zum Wachstum zur Verfügung stand (*Scope for Growth*), wurde von der aufgenommenen Energie die für Respiration und Exkretion benötigte Energie abgezogen. In den unten dargestellten Werten spiegeln sich somit nicht nur die beobachteten verringerten Fraßraten, sondern auch die metabolischen Unterschiede zwischen den Behandlungen wieder.

4.4.1 SCOPE FOR GROWTH

Es wurde festgestellt, dass der *Scope for Growth* mit steigender Versauerung abnimmt. Die tatsächlich zum Wachstum verfügbare Energie (*SfG*) war signifikant größer bei Kontrolltieren als bei Tieren bei 3130 μatm (**Abb.30**). Die Unterschiede zur mittleren Versauerungsbehandlung waren zu den Werten bei 690 und 3130 μatm nicht signifikant.

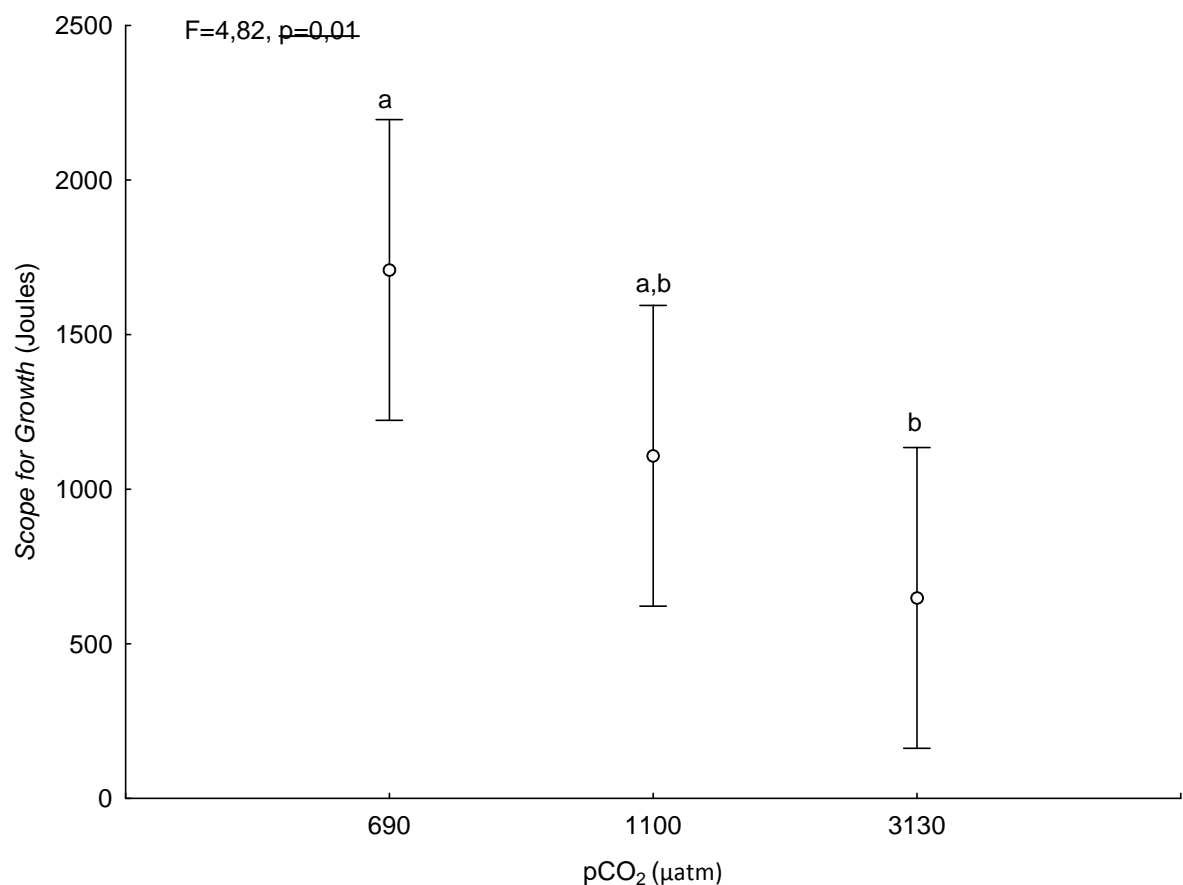


Abb.30 Vergleich des *Scope for Growth* (=der zum Wachstums verfügbaren Energie) für die Seesterne unter verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

4.4.2 ENERGIEEFFIZIENZ DER NAHRUNGSUMSETZUNG

Zur Beschreibung der Umsetzung von aufgenommener Energie in Biomasse wurden zwei energetische Verhältnisse beschrieben: Zunächst wird in **Abb.31** und **Abb.32** direkt die in Biomasse aufgebaute Energie zur durch Fraß aufgenommenen Energie ins Verhältnis gesetzt. In **Abb.33** und **Abb.34** wird anschließend das Verhältnis von aufgebauter Biomasse zum *Scope for Growth* als Beschreibung der energetischen Effizienz der Nahrungsumsetzung dargestellt.

Abb.31 zeigt, dass keine signifikanten Unterschiede im Verhältnis von aufgebauter- zu aufgenommener Energie zwischen den Behandlungen vorliegen. Tiere bei 3130 μatm setzten pro aufgenommene Energie etwas weniger Energie in Biomasse um als die Tiere bei geringerer Versauerung. Für **Abb.31** konnten keine Tiere mit gesamtheitlich ausbleibendem Fraß über die 6 Wochen berücksichtigt werden, diese Tiere werden jedoch in **Abb.32** gezeigt.

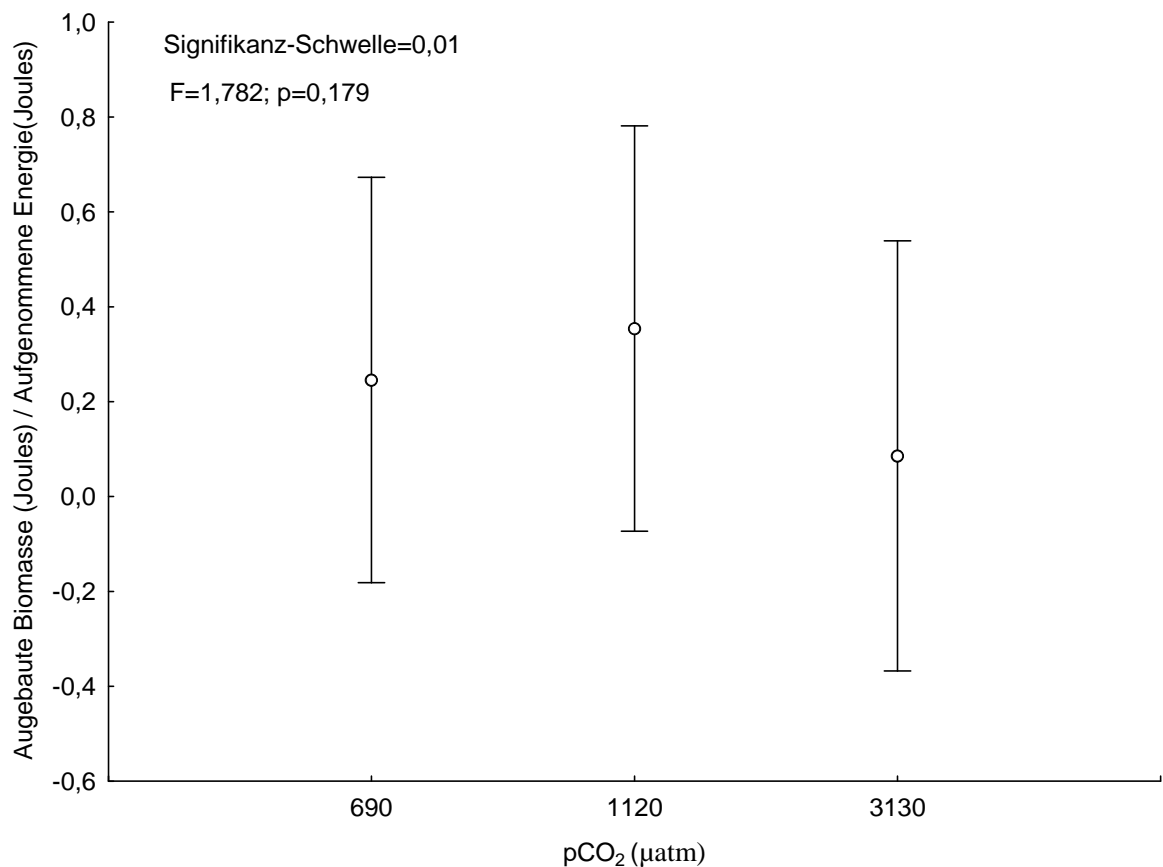


Abb.31 Vergleich des Verhältnisses von aufgebauter Biomasse (als Energieäquivalent) zur durch Nahrung aufgenommenen Energie bei verschiedenen pCO₂-Behandlungen.

Die Werte beziehen sich auf die gesamte aufgebaute Biomasse bzw. die gesamte Fraßmenge über den Versuchszeitraum

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

In **Abb.32** wird das eben beschriebene Verhältnis grafisch so dargestellt, dass auch die Unterschiede zwischen anabolischen und katabolischen Wachstumsbilanzen als Reaktion auf die Ozeanversauerung

deutlich werden. Tiere die mehr aufgenommene Energie in Biomasse umsetzten, liegen in **Abb.32** oberhalb von Tieren mit weniger Umsetzung in Biomasse. Es wird ersichtlich, dass für einen etwa gleichgroßen Aufbau von Biomasse (vor allem bei kleinen Individuen) die Tiere bei 3130 μatm etwas mehr Energie aufnehmen mussten. Im Umkehrschluss zeigt **Abb.32** auch, dass die gleiche Menge aufgenommener Energie in unterschiedlichem Maße in Biomasse umgesetzt wurde. Dabei bauten Tiere bei hohen Versauerungsbedingungen meist etwas weniger Biomasse aus der gleichen aufgenommenen Energie auf, als die Tiere bei den 690 und 1100 μatm -Bedingungen.

Es zeigt sich in **Abb.32** ebenfalls der bereits zu Beginn des Ergebnisteils festgestellte Trend, dass die Tiere bei hohen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen erstens meist kleiner blieben und dass somit Werte der Änderung der Biomasse hier eher im unteren Bereich der Y-Achse anzufinden sind. Zweitens zeigt sich, dass diese Tiere meist deutlich weniger fraßen und die Werte für die aufgenommene Energie somit auf der X-Achse im linken Bereich zu finden sind.

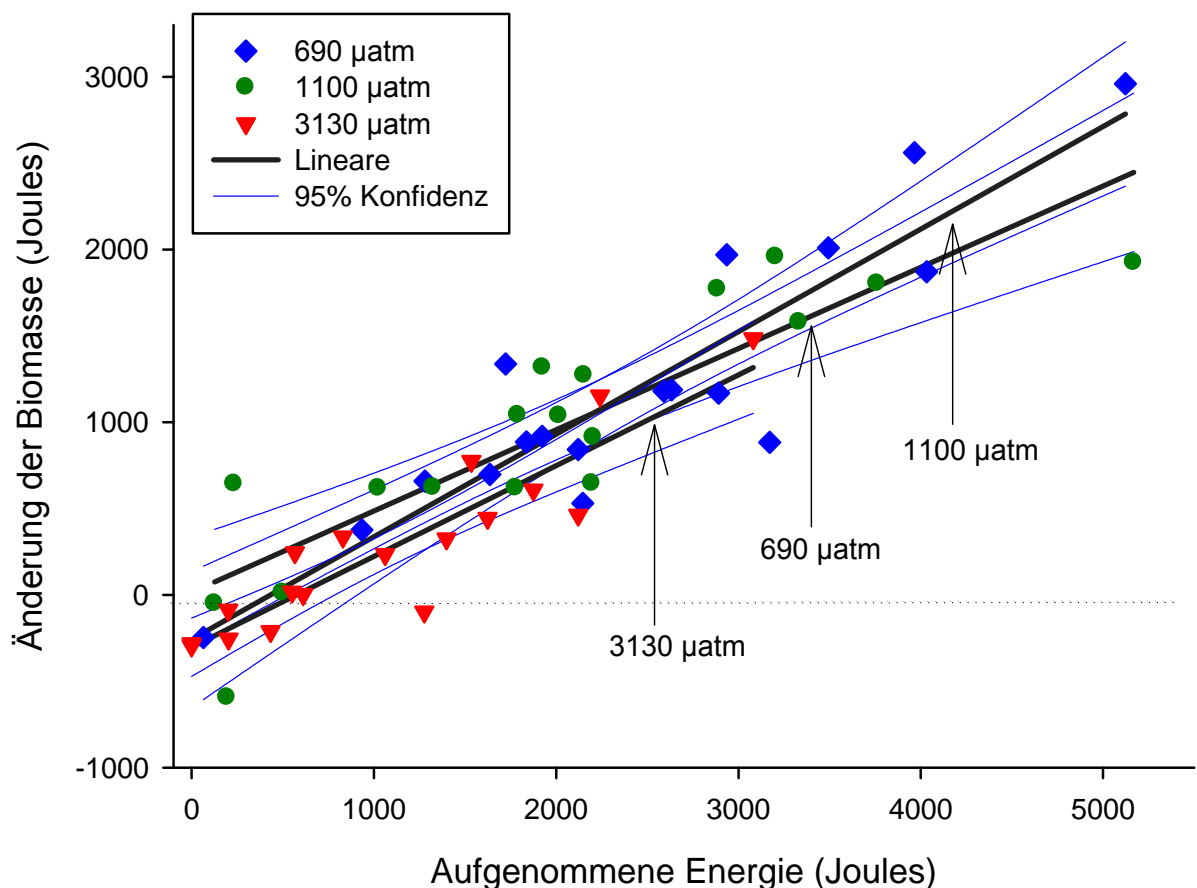


Abb.32 Vergleich der Relation von aufgenommener Energie und Änderung der Biomasse für die drei $p\text{CO}_2$ -Behandlungen.

Die Werte beziehen sich auf die gesamte aufgebaute Biomasse bzw. die gesamte Fraßmenge über den Versuchszeitraum. Blaue dünne Linien zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Trendlinien sind fett und schwarz gekennzeichnet.

Abb.33 zeigt eine Beschreibung der energetischen Effizienz, mit der zum Wachstum verfügbare Energie (*SfG*) bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen in Biomasse (bzw. deren Energie) umgesetzt wurde. Es wird ersichtlich, dass bei Berücksichtigung der metabolischen Unterschiede zwischen den Behandlungen die Tiere bei 3130 μatm etwas weniger effizient die zum Wachstum vorhandene Energie auch in Wachstum umsetzten als dies bei den 690 und 1100 μatm -Behandlungen der Fall war. Dieser Unterschied ist aufgrund der großen Variabilität jedoch nicht signifikant. Die Unterschiede der Energieeffizienz zwischen den Kontrolltieren und denen bei geringer Versauerung ist hier minimal, während die Tiere bei 3130 μatm im Mittel nur etwas mehr als die Hälfte der Energieeffizienz aufwiesen als die Seesterne der zuerst genannten Behandlungen.

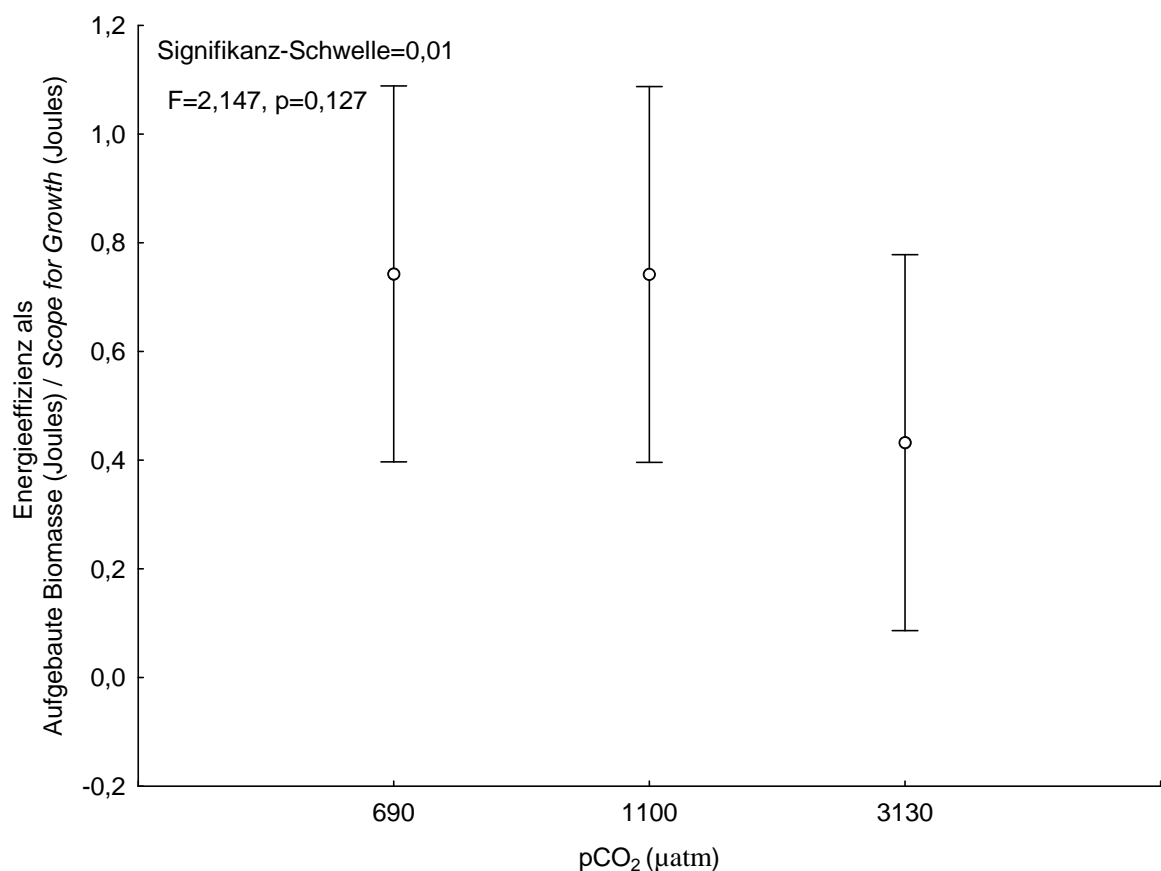


Abb.33 Vergleich der energetischen Effizienz der Nahrungsumsetzung bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen. Es wird hier die aufgebaute Biomasse (als Energie) ins Verhältnis *Scope for Growth* gesetzt, also der Energie, die (theoretisch) zum Wachstum für die Tiere verfügbar war.

Die Werte beziehen sich auf die gesamte aufgebaute Biomasse bzw. die gesamte Fraßmenge, Respiration und Exkretion über den Versuchszeitraum

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

Abb.34 zeigt die in **Abb.33** dargestellten Verhältnisse. Zusätzlich werden hier negative (katabolische) Energiebilanzen deutlich. Die Trendlinien zeigen die Energieeffizienz der jeweiligen Behandlungen auf. Es wird hier gezeigt, dass bei gleicher verfügbarer Energie Tiere bei 690 und 1100 μatm etwas

mehr Energie als Biomasse aufbauen als Tiere bei 3130 μatm . Bei größeren Tieren (mit einem höheren SfG) ist dieser Trend weniger eindeutig.

Bei den Tieren, die im Laufe des Versuchs einen negativen SfG aufwiesen (linke untere Ecke des Graphen), wird der gleiche Trend deutlich: Tiere, die unter hohen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen gehalten wurden, haben bei gleicher Abnahme der Biomasse einen etwas höheren SfG als die Tiere bei weniger versauerten Bedingungen. Mit mehr vorhandener Energie ging somit bei den Tieren bei 3130 μatm die gleiche Biomasseabnahme einher wie bei Tieren bei 690 oder 1100 μatm .

Dies macht deutlich, dass auch bei katabolischen Wachstumsbilanzen die vorhandene Energie weniger effizient bei hohen $p\text{CO}_2$ -Werten genutzt werden konnte.

Die Tiere, die in **Abb.34** links der vertikalen gepunkteten Linie liegen, haben zumindest rein rechnerisch keine Möglichkeit zum Wachstum, da ihr SfG negativ ausfällt. Die Abnahme der Biomasse (Werte unterhalb der gepunkteten Horizontalen) konnte bei diesen Tieren in allen Fällen (bis auf einen) beobachtet werden.

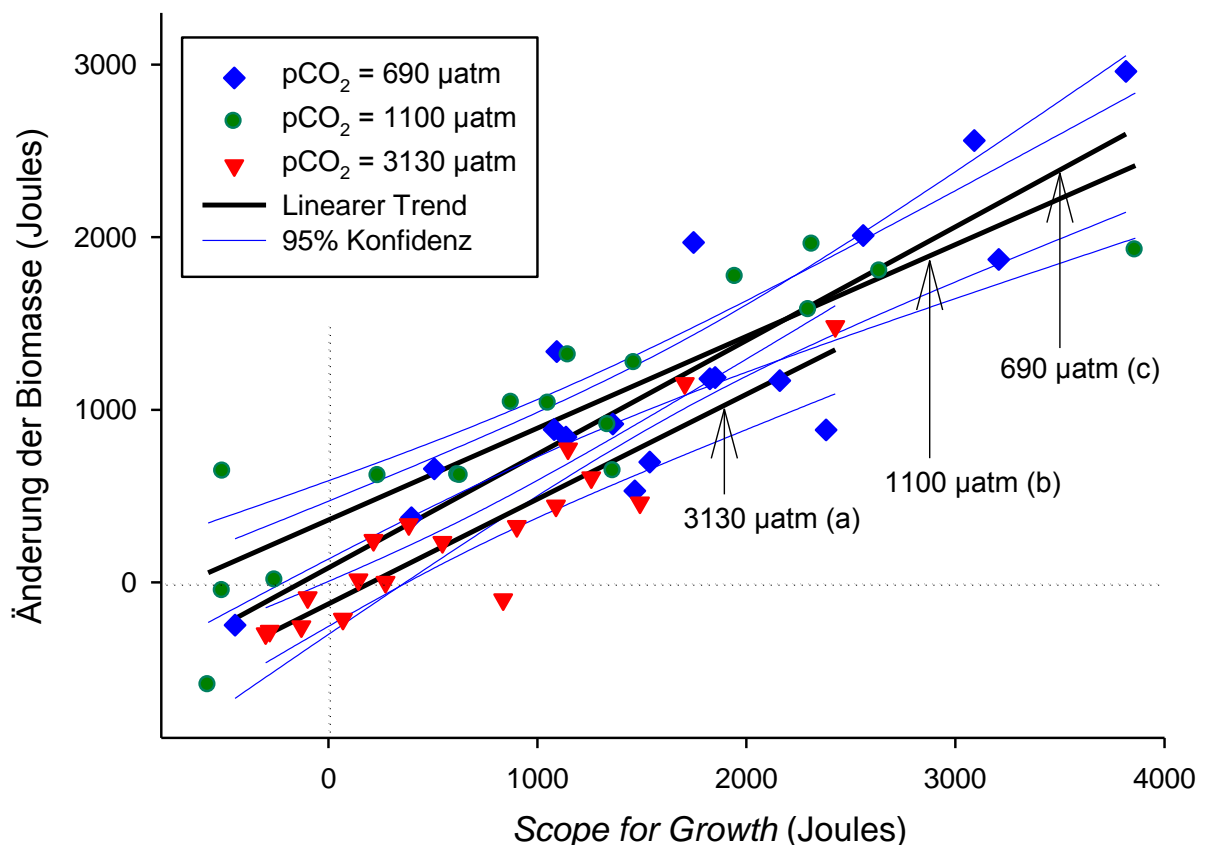


Abb.34 Energieeffizienz ausgedrückt als Relation von *Scope for Growth* und Änderung der Biomasse für die drei $p\text{CO}_2$ -Niveaus. Die Werte beziehen sich auf das Energie-Budget der gesamten aufgebauten Biomasse bzw. des gesamten Fraßes, der gesamten Respiration und der gesamten Exkretion über den Versuchszeitraum. Blaue dünne Linien zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Trendlinien sind fett und schwarz gekennzeichnet.

4.4.3 BILANZ DER ENERGIEGENUTZUNG

Eine Gesamtenergiebilanz wird in **Abb.35** gezeigt. Hier sind für die drei Versauerungsbedingungen die durchschnittlichen Energiewerte für die einzelnen Posten Exkretion, Respiration, aufgebaute Biomasse und *Scope for Growth* der jeweils aufgenommenen Energie gegenüber gestellt.

Zunächst wird in **Abb.35** deutlich, wie sich im Rahmen der Ozeanversauerung bei hohen $p\text{CO}_2$ -Werten die aufgebaute Biomasse im Mittel auf etwa 30% der unter Kontrollbedingungen aufgebauten Biomasse reduziert. Die aufgebaute Energie entspricht bei den Kontrolltieren in etwa der Energie, die die Tiere bei 3130 μatm gerade durch Fraß aufnehmen. Ein deutlich kleinerer Teil der aufgenommenen Energie wurde bei der höchsten $p\text{CO}_2$ -Behandlung für Biomasseaufbau, Respiration und Exkretion genutzt (etwa 60%). Mit knapp 80% bei den Kontrolltieren und über 90% bei 1100 μatm liegt dieser Anteil deutlich höher als bei den Tieren der 3130 μatm -Bedingungen.

Abb.35 zeigt auch die unterschiedliche Energieeffizienz der Behandlungen bei einem Vergleich der Verhältnisse von *SfG* und aufgebauter Biomasse: Im Schnitt werden nur 40% des *SfG* bei den 3130 μatm - Tieren in Biomasse umgesetzt, bei den Kontrollen liegt dieser Wert bei über 70%, bei 1100 μatm sogar bei über 85%.

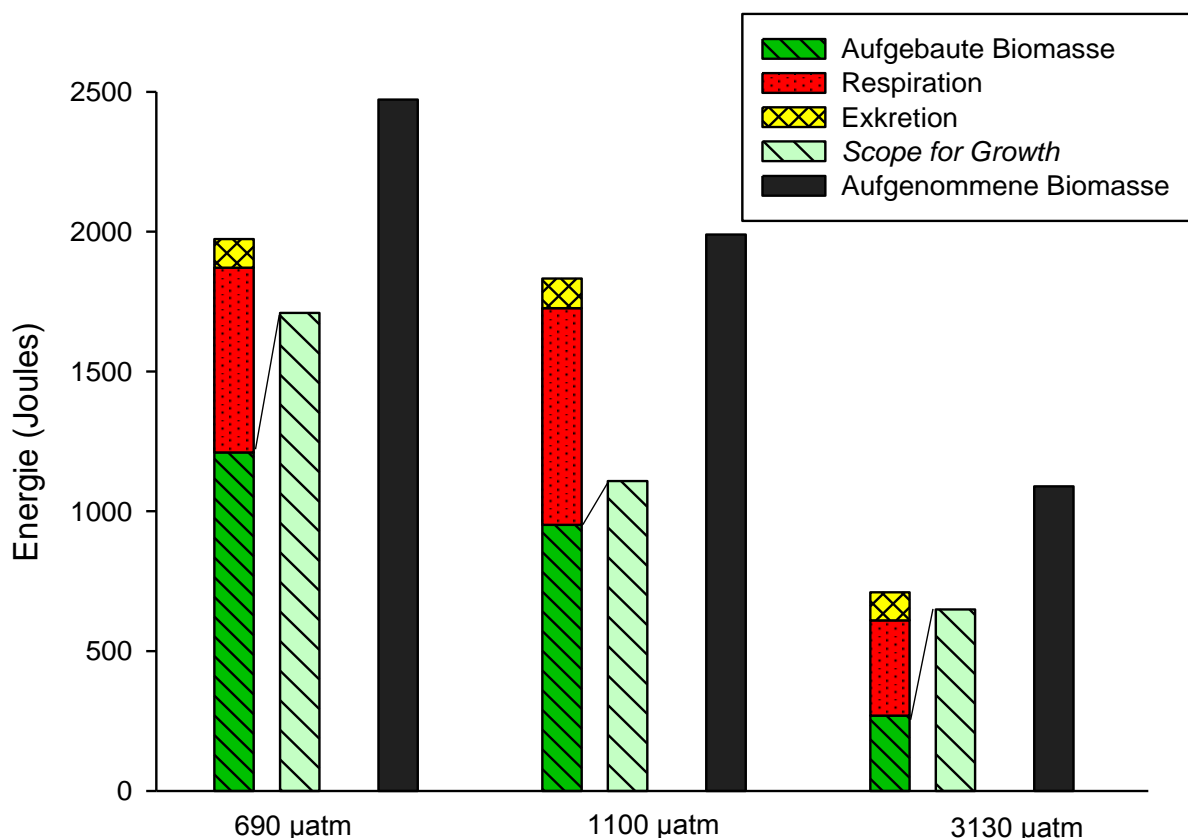


Abb.35 Energiebilanz und Energienutzung von *A. rubens* unter verschiedenen Versauerungsbedingungen. Die jeweils linke Säule legt die Verteilung der beobachteten Energienutzung dar, die mittlere Säule zeigt die potentiell zum Wachstum vorhandene Energie (*SfG*), die jeweils rechte Säule zeigt die Energie der gefressenen Biomasse. Die Verbindung zwischen aufgebauter Biomasse und der *SfG*-Säule ist ein Hinweis auf die Veränderung der Energieeffizienz.

Alle gezeigten Daten beziehen sich auf Mittelwerte. Von Fehlerbalken wurde hier für die Übersichtlichkeit abgesehen.

Die deutlich gesteigerten Exkretionsraten bei starker Versauerung werden auch hier deutlich: Die Werte für die für die Exkretion verbrauchte Energie ist bei allen $p\text{CO}_2$ -Niveaus (bei diesem Maßstab) etwa gleich groß, was auffällig ist, da sämtliche andere Parameter im Zuge der Versauerung deutlich sinken und so der gesteigerte Anteil an verbrauchter Energie für die Exkretion hervortritt.

5. KALZIFIZIERUNG

Im Folgenden werden die Ergebnisse der untersuchten Parameter zu möglichen Kalzifizierungsunterschieden zwischen den Behandlungen vorgestellt. Grundsätzlich zu unterscheiden sind hierbei die quantifizierenden Untersuchungen ([5.1](#)), die sich auf alle Tiere beziehen und somit auch Tiere verschiedener Größen untersuchen. Davon zu trennen sind die qualifizierenden Unterschiede (ab [5.2](#)), die sich auf 9 Tiere gleicher Größe und gleichen Gewichtes beziehen (siehe **Methoden** [4.5](#)).

5.1 QUANTIFIZIERENDER VERGLEICH DES SKELETTGEWICHTANTEILS AM TROCKENGEWICHT

Bei einem Vergleich des kalzifizierten Anteiles am Trockengewicht (**Abb.36**) zeigt sich ein kleiner, nicht signifikanter Unterschied zwischen den Versauerungsbehandlungen. Eine Verfälschung durch die Größe wurde hier nicht vermutet, da Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten) zeigen konnten, dass keine nennenswerten Unterschiede im Verhältnis von Skelettgewicht und Trockengewicht bei verschieden großen Tieren nachweisbar sind.

Abb.36 zeigt, dass durch Seewasserversauerung bei juvenilen, schnell wachsenden Seesternen auf kurze Sicht (sechs Wochen) keine signifikante Änderung des Skelettgewicht-Anteils am Trockengewicht zu finden ist. Der Anteil des Skelettgewichts ist bei den Tieren unter hohen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen im Mittel etwas höher als bei den Kontroll-Tieren.

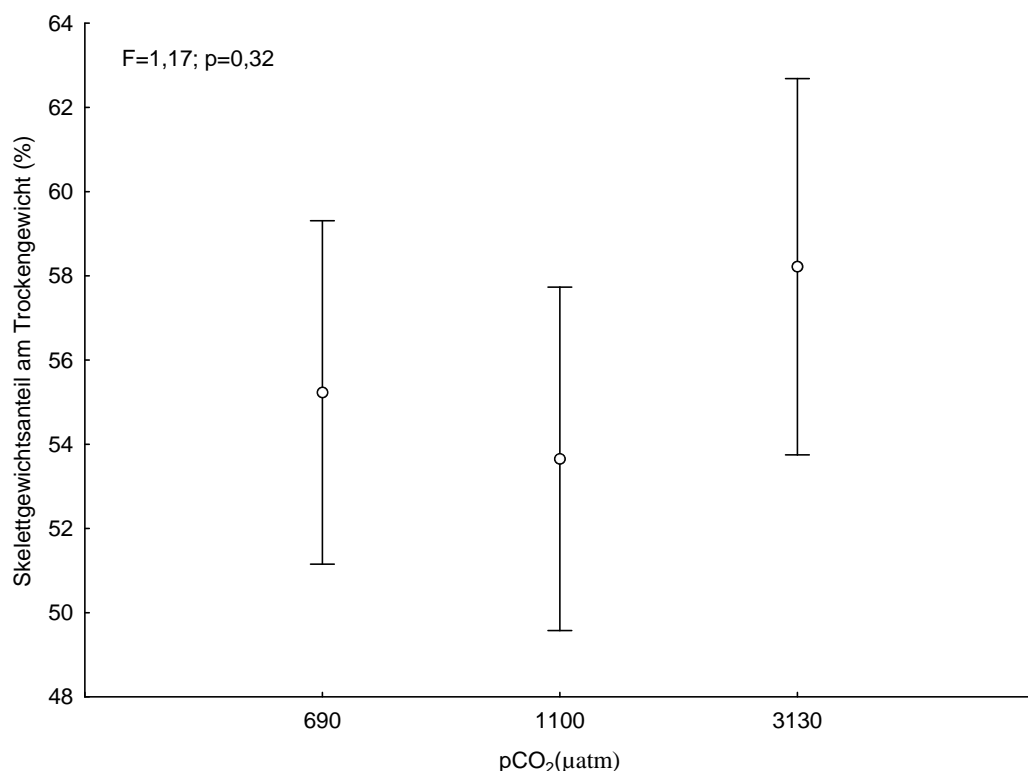


Abb.36 Vergleich des Skelettgewicht-Anteils am Trockengewicht bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

5.2 STRUKTURELL-QUALITATIVER VERGLEICH ANHAND VON RÖNTGENAUFNAHMEN

In **Abb.37** wird ein Überblick über die Röntgenaufnahmen gegeben, die zur Qualifizierung eventueller Kalzifizierungsunterschiede zwischen den Behandlungen aufgenommen wurden. Es geht hier um die Analyse von möglichen Änderungen in der räumlichen Verteilung des Kalkskeletts beziehungsweise dessen Dichteverteilung. Die roten Sterne in den Bildern zeigen die ungefähre Ursprungsgröße des Tieres bei Versuchsbeginn an, womit der Bereich der Arme gekennzeichnet werden soll, in dem auf jeden Fall Kalzifizierung stattgefunden haben muss. Die höher aufgelösten Originale können auf der DVD im Anhang dieser Arbeit eingesehen werden (Ordner „Röntgen“). Die Einschätzung der betreuende Klinik-Ärzte zum Kalzifizierungsgrad der Individuen wird unter der jeweiligen Aufnahme als Wert von ++ bis -- angegeben.

An den Röntgenbildern kann auf einfache Weise demonstriert werden, dass Kalzifizierungsunterschiede – wenn sie quantitativ bestehen – nicht sofort auffallen. Die besonders stark kalzifizierten Tiere (Nummer 40 & 41) treten nur bei den Kontrollen auf. Weitere zu verallgemeinernde Aussagen lassen sich rein durch Betrachtung kaum treffen.

Für die Beurteilung mit bloßem Auge können drei Kalzifizierungsmerkmale relativ leicht unterschieden werden: Erstens das Vorhandensein von Stacheln und deren Dichte (deutlich erkennbar bei Individuum 41), zweitens die Anzahl, Dicke und Struktur der Ambulakralkbögen (‘Querstreifen‘ in den Armen als Gegenspieler zur Armmuskulatur) und drittens die Dichte bzw. Dicke des oralen Peristomalringes (Rechtecke um die Mundöffnung).

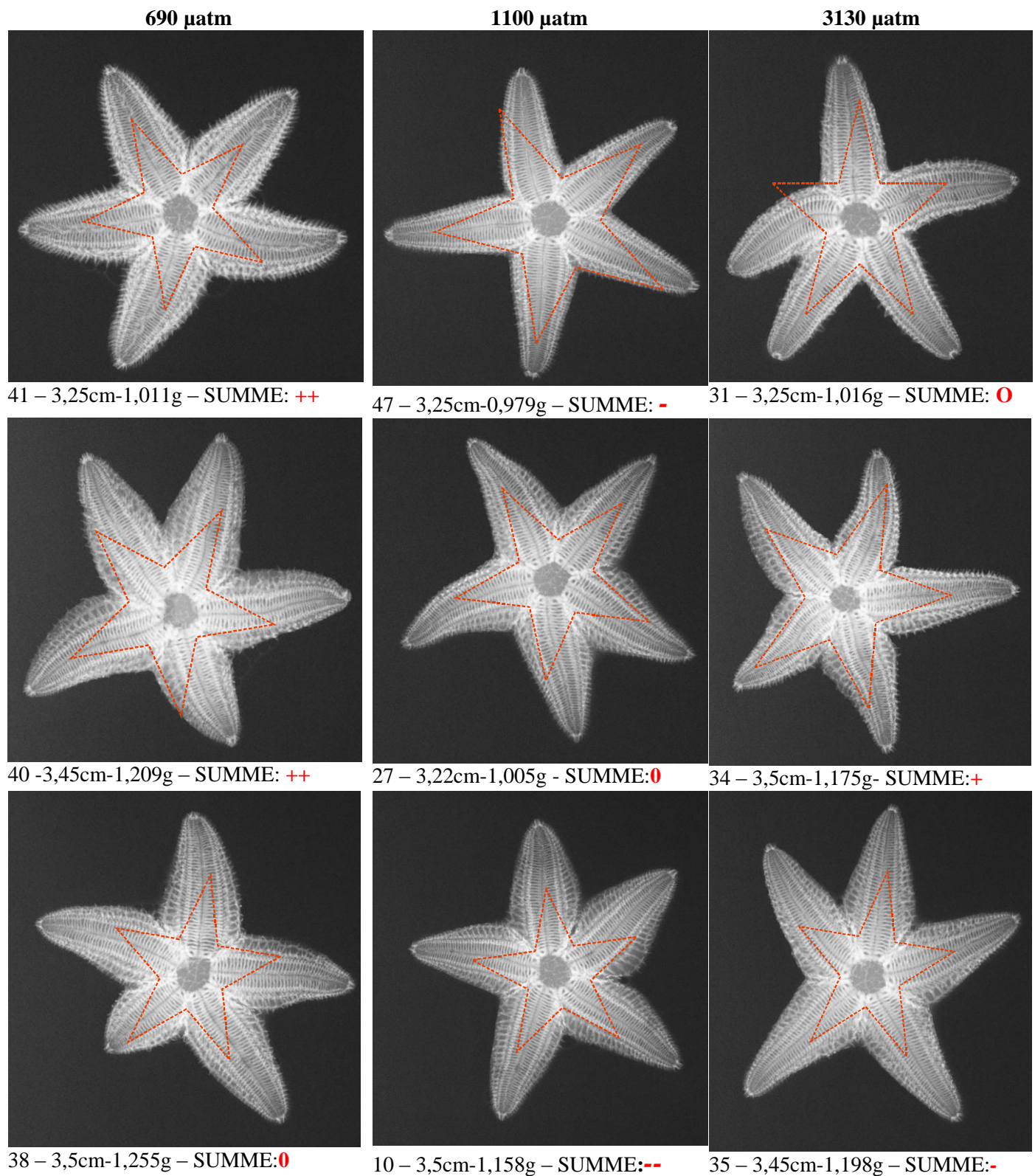


Abb.37 Röntgenaufnahmen von Seesternen gleicher Größe ($F=0,342$; $p=0,723$) und gleichen Gewichtes ($F=1,315$; $p=0,336$) nach 53 Tagen unter verschiedenen Versauerungsbedingungen. Rote Sterne in den Aufnahmen zeigen die Ursprungsgröße bei Versuchsbeginn an.

Angaben unter den Aufnahmen in folgender Reihenfolge: Individuennummer – Größe – Gewicht – Einschätzung zur Kalzifizierung der die Aufnahmen betreuende Ärzte.

Loral-Selina Mammographie-Gerät: Vergrößerung 1,8fach, $V=25\text{kV}$ bei 3 mAS. Volldigitale Aufnahmen mit gleicher manueller Belichtung bei allen Aufnahmen.

5.2.1 VERGLEICH DER AMBULAKRALBÖGEN PRO ARMLÄNGE ALS INDIKATOR FÜR FUNKTIONALE ÄNDERUNGEN IN DER SKELETTSTRUKTUR

Nachdem bei der rein optischen Betrachtung der Röntgenbilder keine eindeutigen Trends festgestellt werden konnten, wurden die Aufnahmen mit Hilfe des Grafikprogrammes Image J genauer analysiert.

Zunächst wurde die durchschnittliche, mittlere Anzahl an Ambulakralbögen durch Abzählen für alle fünf Arme jedes Tieres ins Verhältnis zur jeweiligen Armlänge gesetzt. Bei den Ergebnissen in **Abb.38** wird deutlich, dass Tiere unter Kontrollbedingungen bei gleicher Größe deutlich weniger Ambulakralbögen pro mm Armlänge aufweisen als die Tiere bei versauerten Bedingungen. Dabei ist der gefundene Unterschied nur signifikant zwischen den Tieren bei 690 und 1100 μatm .

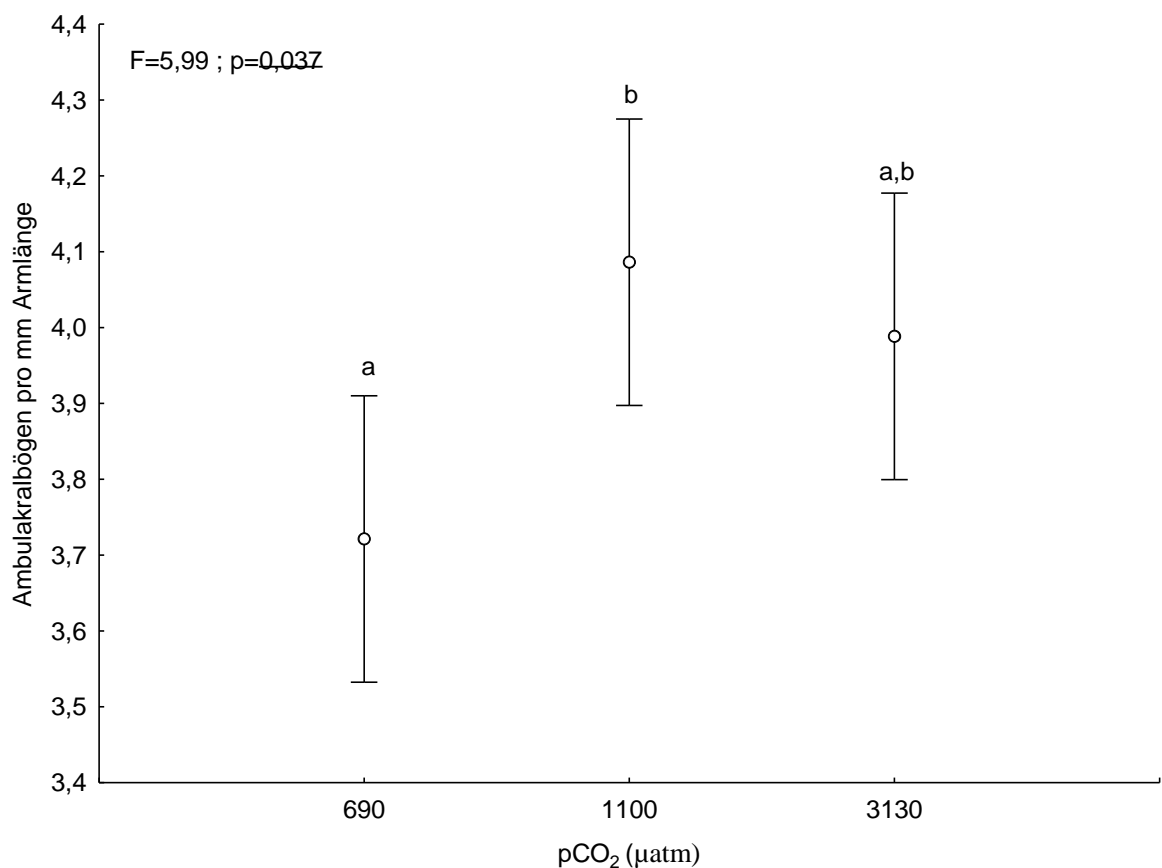


Abb.38 Unterschiede der Anzahl von Ambulakralbögen pro mm Armlänge bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Werten. Die Beobachtungen wurden für alle Arme jedes Tieres durchgeführt – für die statistische Auswertung wurden die Mittelwerte pro Tier genutzt (N=3).

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen zwei Behandlungsebenen.

5.2.2 VERGLEICH VON GRAUSTUFEN DER RÖNTGENAUFNAHMEN

Zur genaueren Analyse der Kalzifizierung der Wachstumszonen wurden zunächst Vergleiche der Graustufen der Armspitzen (Ambulakralkbögen 1-20, siehe **Abb.12**) vorgenommen (**Abb.39**). Es zeigte sich, dass die Kontrolltiere (über alle Arme gemittelt) in den Zuwachszonen ca. 15% heller auf den Röntgenaufnahmen waren als die Tiere bei 1100 μatm und immernoch 10% heller als die Tiere bei 3130 μatm . Die Unterschiede zur Kontrolle wurden in beiden Fällen als signifikant befunden. Die Ergebnisse in **Abb.39** legen nahe, dass die Kontrolltiere während des Versuchs mehr Kalkskelett aufbauen konnten als die Tiere bei 1100 und 3130 μatm .

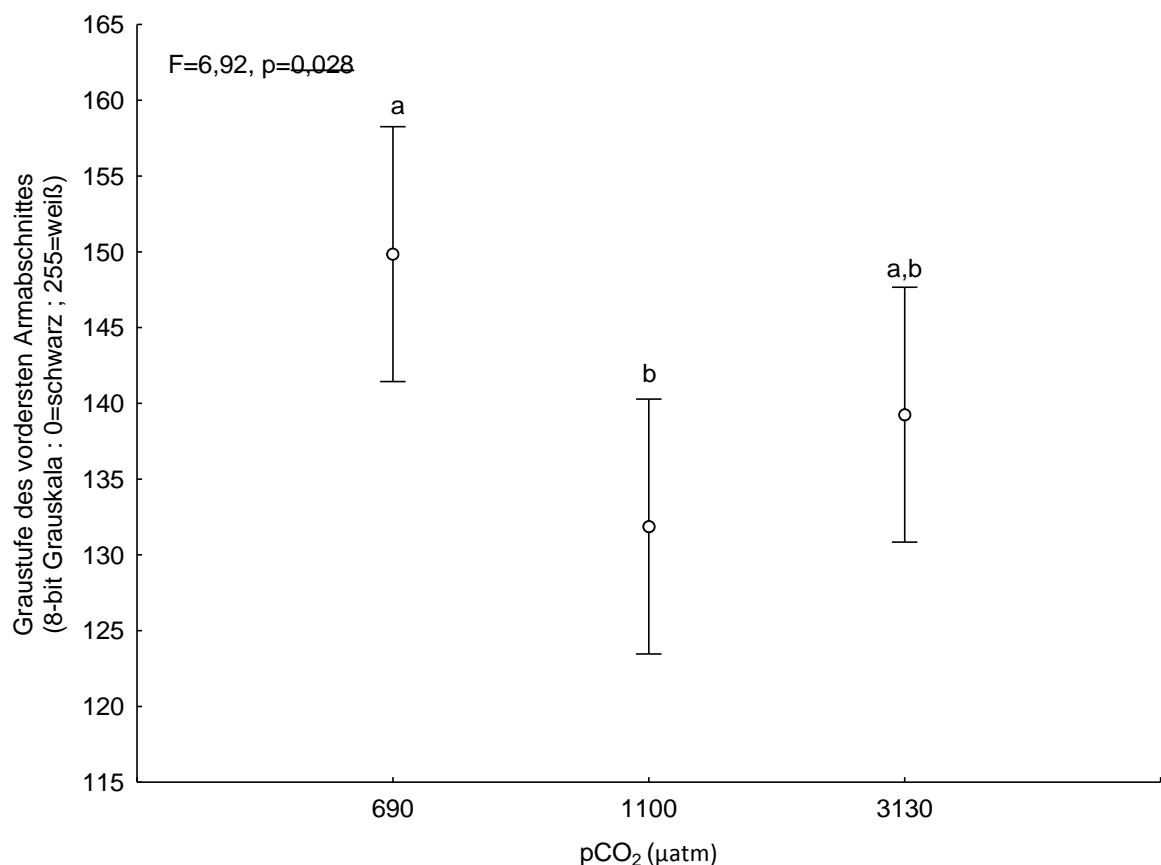


Abb.39 Unterschiede in den Graustufen der im Versuch gewachsenen Armspitzen. Die Graustufen sind ein Maß der Kalzifizierung, wobei höhere Werte höhere Kalzifizierung bedeuten. Die Graustufen wurden für alle Armspitzen gemittelt bevor die statistische Auswertung erfolgte (N=3).

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede zwischen zwei Behandlungsebenen.

Das gleiche Muster wie bei den Armspitzen wurde auch für die durchschnittlichen Graustufen der ganzen Tiere gefunden (**Abb.40**). Es zeigt sich hier ebenfalls höhere Kalzifizierung bei den Kontrolltieren – die geringsten Werte zeichneten sich bei den 1100 μatm -Tieren ab. Ein signifikanter

Unterschied konnte hier bei insgesamt geringeren Varianzen als bei den Armspitzen nur zwischen der 1100 μatm -Behandlung und den Kontrolltieren festgemacht werden, wobei die Kontrolltiere im Mittel 12% mehr Kalzifizierung aufwiesen.

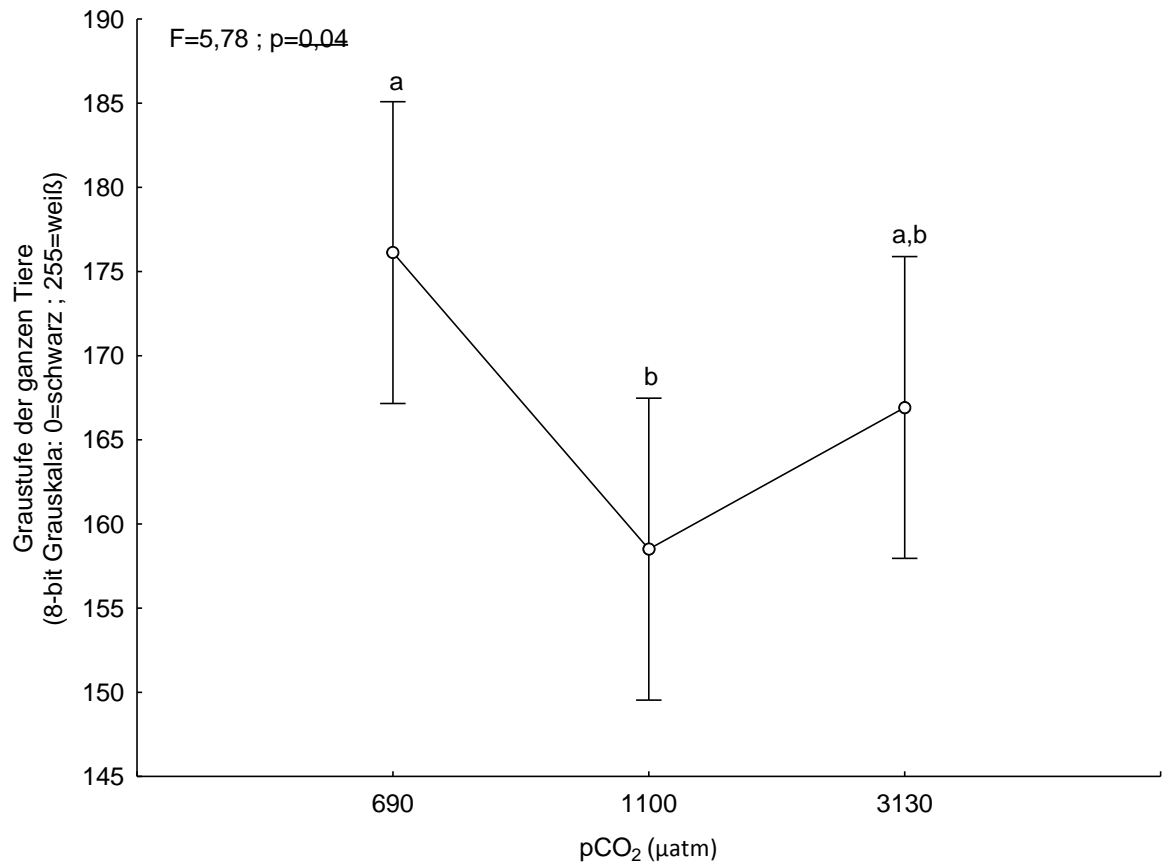


Abb.40 Unterschiede zwischen den durchschnittlichen Graustufen der jeweiligen gesamten Tiere bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen. Die Graustufen sind ein Maß der Kalzifizierung, wobei höhere Werte höhere Kalzifizierung bedeuten.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

5.3 BESTIMMUNG DER KALZIFIZIERUNGSDICHTE

Die in **Abb.41** dargestellten Ergebnisse der durchschnittlichen Gesamt-Kalzifizierung wurden durch eine computertomographische Dichtebestimmung des vorhandenen Kalkes anhand der Hounsfield-Graustufenskala für die in den Röntgenbildern (5.2) dargestellten Seesterne überprüft. Es zeigt sich hier das grundsätzlich gleiche Muster der Dichte an Kalk wie in der Graustufenanalyse in **Abb.40**. Die Behandlungen stehen dabei etwa im gleichen Verhältnis zueinander; die Werte für die Dichte des Skletts sind hier jedoch nicht-signifikant unterschiedlich. Die Tiere der leicht und stark versauerten Bedingungen unterscheiden sich im Kalzium-Scoring kaum von einander, wobei die Kontrolltiere im Mittel etwa eine 12% höhere Dichte des Kalkes aufweisen.

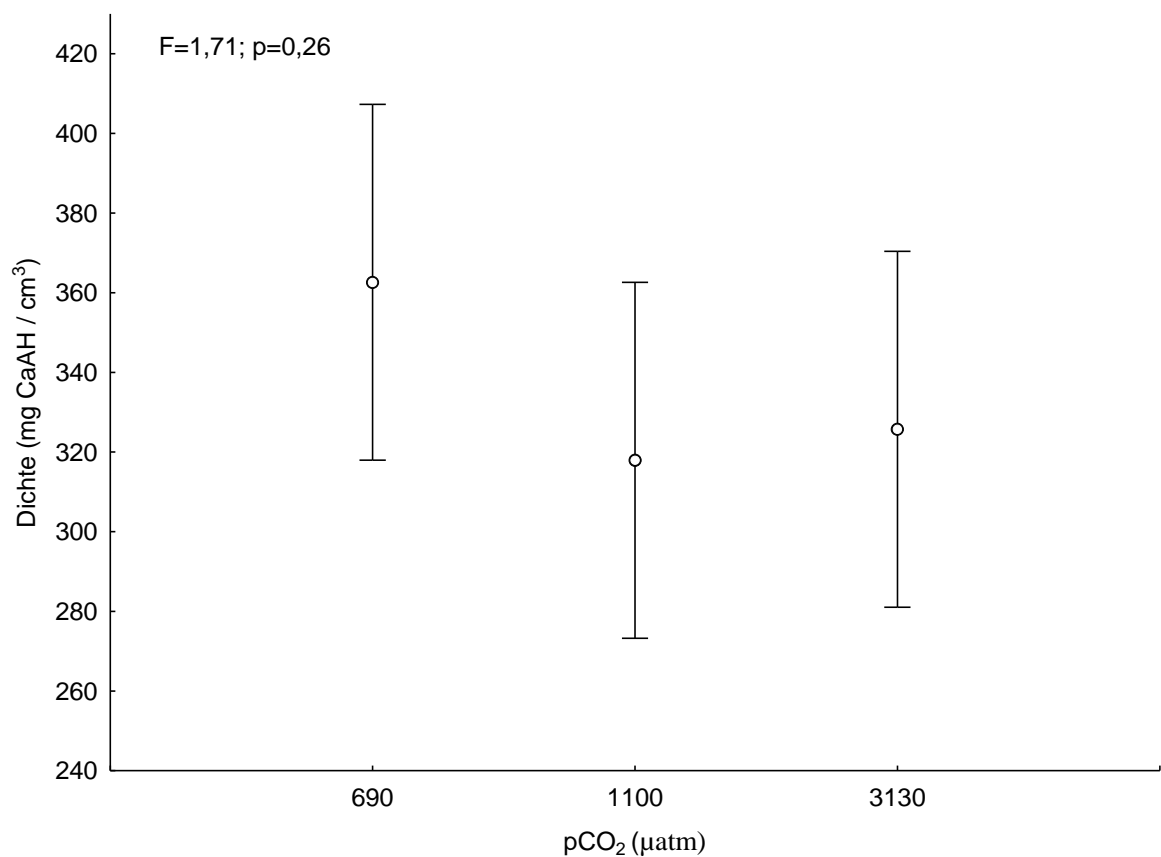


Abb.41 Qualitativer Vergleich der Dichte des Kalkskelettes der Seesterne über ein CT Kalzium-Scoring. Die Dichteangabe bezieht sich auf Kalziumhydroxylapatit.

Beschleunigungsspannung zur Ermittlung der Daten waren hier 120 kV bei effektiven 190mAS und einer Schicht-Kollimation von 0,75mm. Details siehe **Methoden**.

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle.

5.3 UNTERSUCHUNG ZUM FEINBAU VON SKELETT- STRUKTUREN

Als Ergänzung zu den oben beschriebenen Untersuchungen zur Kalzifizierung sollten die Ergebnisse durch eine Analyse des Stachelfeinbaus und der Ambulakraltbögen-Morphologie auf eventuelle Unterschiede untersucht werden, um die Beobachtungen aus [5.1](#) und [5.2](#) besser erklären zu können. In den binokularischen Aufnahmen zeigen sich auch bei näherer Betrachtung rein optisch weder bei den Stacheln noch bei den Ambulakraltbögen eindeutige Unterschiede zwischen den Versauerungsbehandlungen was deren Struktur anbelangte.

Von einer Analyse der Aufnahmen mit technischen Hilfsmitteln musste aufgrund einer fehlenden geeigneten Methode bisher abgesehen werden (siehe **Methoden**). In **Abb.42** sind je ein Beispielbild der Stachel-Feinstrukturen und ein Beispielbild der Ambulakraltbögen gegeben. Der Vollständigkeit halber werden zur Übersicht die für die Analyse beabsichtigten Bilder im Anhang in **Tab. 3** gezeigt, hochauflösende Aufnahmen befinden sich ebenfalls auf der DVD im Anhang.

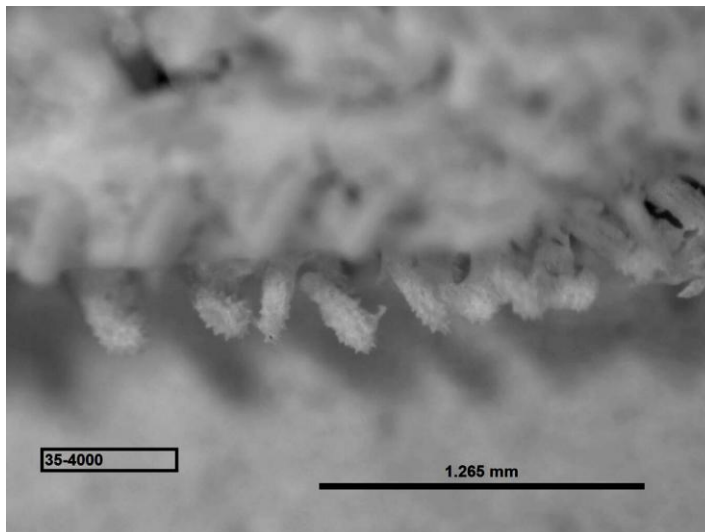


Abb.42

Feinstrukturen der Stacheln der Armspitzen (**oben**) und Feinbau des Ambulakralsystems (**Aufsicht, unten**).

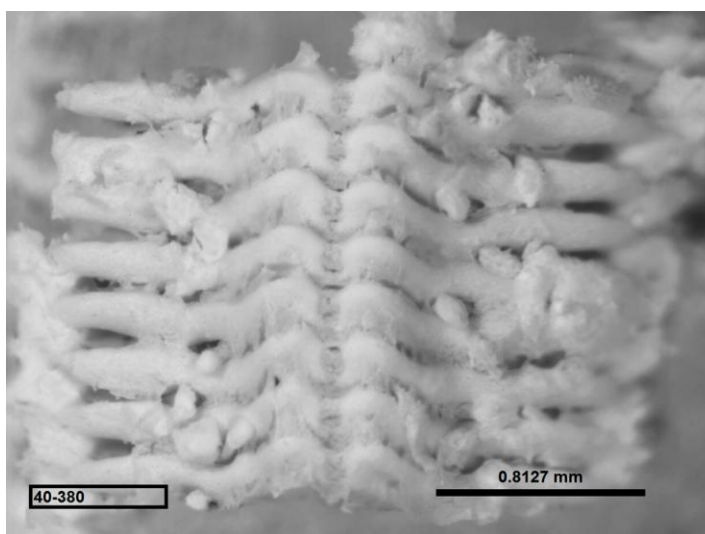
Schwierigkeiten mit der Analyse (z.B. durch Vermessen oder Graustufenanalyse) werden hier anhand der unterschiedlichen Schattenbedingungen und der räumlichen Anordnung der Strukturen deutlich.

Zuordnung der Aufnahmen anhand der schwarzen Box:

Erste Zahl=Individuennummer,

Zweite Zahl=Behandlung

[380, 1120 und 4000 ppm Aquarien-Besprudelung].



D. DISKUSSION

1. METHODEN

1.1 VERSUCHSAUFBAU UND PROBENNAHME

Der Aufbau des Experiments entspricht weitestgehend dem Aufbau des neunmonatigen Langzeitexperiments von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009). Für die Vergleichbarkeit der Daten ist darauf hinzuweisen, dass die Tiere in dem oben beschriebenen Experiment zu Versuchsbeginn etwa doppelt so groß waren wie die Tiere bei Appelhans & Thomsen. Die nicht-randomisierte Anordnung der Aquarien des Kurzzeitexperiment (siehe **Abb.9**) unterscheidet sich ebenfalls von dem Langzeitexperiment und könnte durch unterschiedliche Bedingungen zwischen vorderem und hinterem Regalbereich (z.B. durch Temperatur – oder Lichtbedingungen) zu abweichenden Versuchsbedingungen geführt haben. Da jedoch keine andauernden Temperaturunterschiede vorlagen und da auch in den Langzeitexperimenten die gleichen Trends der Entwicklung beobachtet wurden, wurde davon ausgegangen, dass die Anordnung keine Störeffekte verursachte.

Die Modifikation des Versuchsaufbaus nach acht Versuchstagen wurde notwendig, da zur Zeit des Experiments in dem genutzten Durchflusswasser aus der Förde bereits zu viel CO₂ für eine eindeutige Kontrollbehandlung gelöst war: Das in der Experimentplanung beabsichtige Besprudeln mit Luft in den Vorflutbecken und den Aquarien stellte sich als nicht ausreichend dar, sodass ein zusätzliches 90 l Vorsprudelbecken (siehe **Abb.8**) eingebaut wurde. Durch die Versuchsmodifikation wurde der Zufluss zu den Aquarien nur für wenige Minuten unterbrochen. Aus zwei Gründen ist ein Schock der Tiere durch die Veränderung weitestgehend auszuschließen: Erstens waren die Veränderungen im pH mit +0,1 für die 690 µatm-Behandlung (Mittel für alle Replikate) und -0,1 pH-Einheiten für die 3130 µatm-Behandlung gering. Zweitens sind die verwendeten Tiere durch ihr Habitat bereits an kurzfristig fluktuierende pH-Schwankungen gewöhnt, deren Amplituden binnen einer Woche das Mehrfache der hier verursachten Änderungen betragen können (siehe **Abb.6**). Es zeigten sich weiterhin in keinem der untersuchten Verläufe von Größenwachstum, Gewichtsentwicklung oder Fraß erkennbare Veränderungen der Trends nach der Versuchsmodifikation.

Die täglichen Durchflusskontrollen und die wöchentliche Kontrolle der Versuchsbedingungen in allen Aquarien mit tragbaren Messgeräten sind zwar (vor allem für den pH) weniger genau, ermöglichte jedoch, dass die Werte innerhalb eines Aquariums um meist weniger als 0,05 pH-Stufen über die Versuchszeit variierten, sodass insgesamt von einer hohen Konstanz der Versuchsbedingungen für jedes Tier ausgegangen werden kann.

1.2 WACHSTUMS-UND FRAßMONITORING

Es ist darauf hinzuweisen, dass trotz großer Bemühungen um akkurates Messen die Größenbestimmung nach Nauen (1978) mit einer Messung von Armspitze zu Interambulakrale („Radius“) mehr Genauigkeit zuzuschreiben ist als die hier gewählte Methode der Messung des größten Durchmessers (Armspitze zu Armspitze). Auch wenn wegen des Umfanges der gesammelten Daten klare Trends zu erkennen sind, ist bei der Interpretation der Ergebnisse für das Wachstum stets dem Gewicht als Indikator mehr Verlässlichkeit zuzuschreiben.

Die Fütterung wurde hier im Gegensatz zu den Langzeitversuchen von Appelhans & Thomsen direkt nach den Größen der Seesterne ausgerichtet. Dies ändert zwar die Anzahl der gefressenen Muscheln, stellt aber sicher, dass alle Seesterne vor eine gleichschwere Aufgabe bei der Öffnung der Muscheln gestellt wurden und dass verminderte Fraßraten nicht durch Schwierigkeiten mit dem Öffnen proportional zu großer Muscheln ausgelöst wurden.

1.3 AKTIVITÄTSMESSUNGEN

Anhand der Daten von Kowalski (1955) wird ersichtlich, dass Temperaturen von 13°C wie sie in den Experimenten zur Aktivitätsmessung dieser Arbeit angewandt wurden, einer verhältnismäßig hohen Aktivität entsprechen. Es wurde angenommen, dass Aktivitätsveränderungen durch Seewasserversauerung nahe dem Temperaturoptimum am deutlichsten sichtbar werden. Gleichzeitig entsprechen 13°C in etwa der Temperatur in den Aquarien, sodass Messartefakte durch Temperaturschocks unwahrscheinlich sind.

Die Aktivitätsmessungen unterlagen vor allem bei der ersten Messung nach drei Wochen so großen Varianzen, dass die Daten nur schwer interpretierbar sind. Es empfiehlt sich daher für zukünftige Studien, mehrfache Messungen für jedes Tier durchzuführen und deren Mittel zur Datenauswertung zu verwenden.

1.4 METABOLISMUSUNTERSUCHUNGEN

Die Messung der Respiration in diesem Experiment unterlag zwei Schwierigkeiten, die nicht behoben werden konnten. Es wurden alle Messungen in gleichgroßen Gefäßen durchgeführt (ca. 320 ml Volumen), wobei das Volumen für die kleinsten Seesterne proportional deutlich größer war als für die großen Seesterne. Die Messgefäße waren für die großen Tiere gut proportioniert und sorgten beispielsweise durch die runde Form für eine meist gleichmäßige Bewegung der Tiere während der Messungen. Für die kleinsten Tiere war das Volumen für eine genaue Bestimmung der Respiration proportional zu groß. Von einer Messung in kleineren Gefäßen wurde im Interesse eines gleichen Messverfahren abgesehen. Als Folge dieses Missverhältnisses der Volumengröße zur Größe mancher Tiere konnten einige dieser Seesterne aufgrund gleichgroßer bakterieller Atmung bzw. sehr geringer

Atmungsabnahme nicht für die Auswertung herangezogen werden, da ihnen sonst positive Atmungsraten zuzuschreiben gewesen wären. Von einer einfachen Addierung eines Wertes X auf alle Atmungsraten wurde aufgrund des unklaren Anteils der bakteriellen Atmung bei den kleinsten Tieren ebenfalls abgesehen.

Das zweite Problem stellte die Neukalibrierung der Messelektroden zu Beginn jedes Versuchstages dar, da hier zwar das Verhältnis zwischen den Messungen jeden Tages durch simultane Kalibrierung gleich blieb, jedoch die Messungen unter den 4 Messtagen Variabilität unterliegen. Es wurde auf gleiche Standard-Konzentrationen, Einwirkzeiten und Anpassungen der Versuchsbedingungen (Luftdruck und Temperatur) geachtet, jedoch konnte ein Restfehler nicht vermieden werden. Dieser Restfehler fällt nach den Umrechnungen auf die Standard-Atmungsrate $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{Nassgewicht}} \cdot \text{Stunde}^{-1}$ allerdings sehr gering aus.

Ein weiteres Problem, dass jedoch bei späteren Metabolismus-Versuchen umgangen werden kann, ist das des Fraßes. In diesem Experiment wurden die Tiere während der Messungen von Atmung und Exkretion wie bisher weiter gefüttert. Da jedoch binnen dieser 4 Tage nicht alle Tiere gleichmäßig viel und auch nicht zeitgleich vor den Messungen fraßen, kann nicht ausgeschlossen werden, dass Artefakte die Messungen durch Metabolismussteigerungen beeinflussten. Für spätere Experimente dieser Art empfiehlt es sich somit, die Tiere für eine festgesetzte Zeit vor den Metabolismusmessungen hungern zu lassen.

Houlihan & Duthie (1981) konnten zeigen, dass es bei Respirationmessung keine signifikanten Unterschiede zwischen Tieren *in situ* und Tieren aus Laborbedingungen gibt. Diese Aussage scheint in sofern wichtig, als dass die Kalkulierung des *Scope for Growth* (siehe **Methoden 6.4**) und der Energieeffizienz mehr Prognosefähigkeit zugedacht werden kann, da diese durch den hohen Anteil der veratmeten Energie bedeutend beeinflusst werden. Eine Aussage über das zukünftige Entwicklungsvermögen von *Asterias rubens* sollte somit auch anhand der Metabolismusparameter mit einiger Genauigkeit möglich sein.

1.5 UNTERSUCHUNG DER KALZIFIZIERUNG

Die Methode der Bestimmung des Skelettgewichtanteils am Trockengewicht ist eine rein quantitative Bestimmung und unterliegt einer größeren Fehlerbreite als die qualitativen Analysen durch Röntgen- und CT-Aufnahmen. Dennoch war durch Trocknung und Vermuffelung eine Analyse aller Tiere möglich, während die Replikation von N=3 für die qualifizierenden Verfahren nur begrenzt aussagekräftig sind. Da Röntgen- und CT-Verfahren bisher nicht erprobt wurden, sollten die hier durchgeführten Untersuchungen auch als Pilotstudie fungieren und nehmen somit nicht in Anspruch, eine erprobte Methode zur Bestimmung von Kalzifizierungsunterschieden bei marinen Invertebraten zu sein. Aufgrund der kapazitiven Begrenzung des Messverfahrens für die qualifizierende Herangehensweise wurde ein Vergleich von je drei mittelgroßen Tieren gewählt, die sich in Gewicht und Größe zwischen den Behandlungen nur minimal unterschieden. Für eine gute Aussagekraft der

gefundenen Ergebnisse wäre jedoch zusätzlich die Analyse von Unterschieden zu und zwischen kleineren so wie größeren Tieren notwendig.

Es ist darauf hinzuweisen, dass die Untersuchung der Seesterne durch computertomographische Kalzium-Scorings eine verlässlichere und etabliertere Methode zur Beschreibung von qualitativen Kalzifizierungsunterschieden darstellt als die Nutzung von Röntgenaufnahmen. Da ähnliche Verhältnisse zwischen diesen Methoden gefunden wurden, konnten die Ergebnisse für die Graustufen-Analyse der Röntgenaufnahmen hier ebenfalls behandelt werden, um die Möglichkeiten einer Röntgenanalyse zu verdeutlichen. Der Vorteil an diesem bildgebenden Verfahren liegt im Gegensatz zu den CT-Aufnahmen darin, dass die Analyse der Wachstumszonen hier unkompliziert möglich ist. Weiterhin ist die Analyse der räumlichen Verteilung (hier die der Ambulakrallbögen) anhand der Röntgenaufnahmen mit hoher Genauigkeit möglich, auflösungsbedingt ist dies jedoch nicht im CT möglich. Für spätere computertomografische Untersuchungen ist darauf zu achten, dass eine genaue Kalibrierung der Messinstrumente an die hohen Kalkgehalte bei Seesternen angepasst werden muss um verlässliche Ergebnisse zu erhalten.

Die Stacheln quantitativ zu bestimmen, gestaltete sich sowohl bei der Analyse der Röntgenaufnahmen als auch auf den binokularischen Aufnahmen als schwierig, da deren räumliche Orientierung ein genaues Vermessen beispielsweise der Länge unmöglich machte. Für die Analyse der Röntgenbilder sind derart kleine Strukturen, die häufig kaum gegen die Bildumgebung abgrenzbar sind, ungeeignet. Aus diesem Grund wurden beim Ausschneiden der Armspitzen bzw. der ganzen Tiere für die Graustufenanalyse die Stacheln nicht mit berücksichtigt, um keine Verfälschungen durch die schwarze Bildumgebung zu riskieren. Von einer Analyse des Peristomalrings musste ebenfalls aufgrund des hohen Weißanteils in diesem Bereich und der daraus folgenden schwierigen Vergleichbarkeit der Tiere untereinander abgesehen werden.

2. WACHSTUMSÄNDERUNG UND FRAßMONITORING

2.1 HYPOTHESENPRÜFUNG

Die Arbeitshypothese, dass Ozeanversauerung durch erhöhte $p\text{CO}_2$ -Werte im Wasser zu einer Reduktion von Größen- und somatischen Wachstum führt, konnte zumindest für kurzfristige Zeitspannen bestätigt werden. Über den sechswöchigen Zeitraum wuchsen Seesterne, die bei 3130 μatm gehältert wurden, signifikant weniger und nahmen signifikant weniger an Biomasse zu als Kontrolltiere. Das Größenwachstum reduzierte sich auf etwa 50% des Wachstums der Kontrolltiere, die Gewichtszunahme machte weniger als 30% der Gewichtszunahme der Kontrollen aus. Für die Tiere bei 1100 μatm konnte der gleiche (hier jedoch hier nicht-signifikante) Trend des verminderten Größen- und Gewichtswachstums im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden. Stetige Auseinanderentwicklung von Größe und Gewicht der Tiere der drei Behandlungen konnte über den Versuchszeitraum festgestellt werden. Die beobachteten Ergebnisse geringeren Wachstums von *Asterias rubens* bei Seewasserversauerung decken sich mit den Ergebnissen anderer Autoren zu Echinodermaten (Appelhans et al. eingereicht 2011 ; Dupont et al. 2010 ; Dupont et al. 2010a ; Dupont et al. 2010b ; Kroeker et al. 2010 ; Lebrato et al. 2010).

Die Erwartung, dass Seewasserversauerung zu einer Reduktion der Fraßraten führt, konnte bestätigt werden (**Abb.21**). Die verringerten Fraßraten bei steigendem $p\text{CO}_2$ können durch die proportional geringere Nahrungsaufnahme bei kleineren Tieren erklärt werden (Appelhans et al. eingereicht 2011 ; Sommer et al. 1999). Es ist dabei bisher nicht geklärt, ob auch die verringerte Größe bei hohem $p\text{CO}_2$ zu einer proportional geringeren Fraßrate führt. Dass die Menge an aufgenommener Muschelmasse unter stark versauerten Bedingungen so gering ist, dass Wachstum aufgrund einer Umverteilung der Energienutzung bei einem Teil der Individuen nicht oder nur geringfügig möglich ist, wird neben möglichen Gründen hierfür in den folgenden Abschnitten diskutiert (siehe **Diskussion 4.3**). Es konnte dabei jedoch keine Klärung der genauen Kausalität zwischen vermindertem Wachstum und vermindertem Fraß aufgezeigt werden. Bei der Untersuchung der Fraßraten wurde nur die Fraßmenge ausgewertet, für ein gesamtheitliches Bild wäre eine Analyse der Gesamtfraßmenge bzw. der Qualität des Fraßes (z.B. Zugkraft der Muskeln, Anzahl von Fraßversuchen, Stabilität des Ambulakralsystems) ebenfalls notwendig, um zu ergründen, wodurch eine eventuell verringerte Fraßrate bei hohem $p\text{CO}_2$ begründet ist.

Siehe Zur Diskussion über Fraßunterschiede auch **Diskussion 4.4**.

2.2 VARIABILITÄT DER REAKTION

Die Variabilität der Reaktionen auf die Versuchsbedingungen war bei allen Behandlungen groß und spiegelt vermutlich die Variabilität der Fitness im Bezug auf Versauerung zwischen äußerlich gleich wirkenden Tieren wieder. Dennoch konnten negative oder stagnierende Wachstumsbilanzen über die

gesamte Versuchszeit bei 6 Seesternen unter 3130 μatm festgestellt werden, während dies nur bei einem Tier unter Kontrollbedingungen der Fall war (1100 μatm : 2 Fälle, **Abb.13**), komplett ausbleibender Fraß wurde bei zwei Tieren beobachtet (beide 3130 μatm , **Abb.13**). Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass trotz der geringen Reaktion einiger Tiere auf Seewasserversauerung ein Teil der Population in der Kieler Förde durch die gesteigerten $p\text{CO}_2$ -Werte an einer normalen Entwicklung gehindert wird. Zu berücksichtigen bleibt auch, dass für das Experiment nur gesund wirkende Seesterne ausgewählt wurden, sodass eventuell in der natürlichen Population der Kieler Förde mehr Tiere durch ohnehin schon verminderte physische Voraussetzungen deutlicher von den hier simulierten Versauerungsbedingungen betroffen wären.

Im Rahmen des Experimentes wurde keine Mortalität beobachtet. Das gilt auch für das neunmonatige Langzeitexperiment mit juvenilen- und für das Experiment mit adulten *Asterias rubens* (Appelhans & Thomsen unveröffentlichte Daten, 2009 ; Appelhans et al. eingereicht 2011). Da die Sättigungszustände für Aragonit (**Tab.2**) bei allen Versauerungsbedingungen physikalisch lösliche Bedingungen aufwiesen und da das magnesiumhaltige Kalzit-Skelett der Seesterne ähnlich physikalisch löslich wie Aragonit ist, wird davon ausgegangen, dass *A. rubens* eine unerwartet hohe Resistenz gegenüber versauerten Seewasserbedingungen besitzt. Dennoch muss davon ausgegangen werden, dass vor allem die Tiere mit komplett ausgebliebenem Fraß auf lange Sicht aus ihrer Alterskohorte aufgrund verminderter Konkurrenzfähigkeit und Fitness ausscheiden. In diesem Experiment waren 1/3 aller Tiere bei 3130 μatm durch stagnierendes oder abnehmendes Wachstum charakterisiert. Sollten diese Trends nicht durch weitreichende Adaptationsfähigkeiten der Seesterne binnen des nächsten Jahrhunderts vermindert werden, kann eine Abnahme der Populationsdichte der Seesterne in mindestens in der Kieler Förde vermutet werden.

2.3 ADAPTATIONSFÄHIGKEIT DER TIERE

Für eine partielle Adaptationsfähigkeit der Seesterne an erhöhte $p\text{CO}_2$ -Bedingungen spricht, dass von Appelhans et al. (eingereicht 2011) in einem zehnwöchigen Versauerungsexperiment gezeigt werden konnte, dass adulte *Asterias rubens* tendenziell positiver auf leicht versauerte Bedingungen als auf Kontrollbedingungen reagieren können (Unterschiede nicht signifikant). Die Ergebnisse decken sich dabei mit denen von Gooding et al. (2009), die eine Steigerung des Wachstums bei leicht versauerten Bedingungen bei *Pisaster ochraceus* nachweisen konnten (380→780 ppm). Für eine partielle Adaptation der Toleranz von adulten *A. rubens* auf Seewasserversauerung spricht weiterhin die Beobachtung, dass die heutigen Charakteristika des Carbonatsystems in der Kieler Förde über weite Teile des Jahres bereits deutlich versauert sind ($p\text{CO}_2$ -Mittel von 07/2008-03/2009 = 1026 μatm ; Thomsen et al. 2010, **Abb.6**). Die Bedingungen der Förde entsprechen somit (deren Variabilität außer Acht gelassen) eher den Bedingungen der mittleren Behandlung des oben beschriebenen Experiments als denen der Kontrollbehandlung.

Im Kontext dieser Beobachtungen argumentieren Appelhans et al. (eingereicht 2011) weiterhin, dass eventuell nur Hyperkapnie-tolerante Individuen überhaupt eine Größe erreichen können, bei der sie für Experimente mit Adulttieren selektiert werden können. Der Effekt wäre hier, dass Hyperkapnie-intolerante Individuen in den Versuchsergebnissen nur bei Experimenten mit deutlich kleineren Juveniltieren auftreten, während bei den Adulttieren eine scheinbare Toleranz bis zu höheren Versauerungsbedingungen festgestellt werden kann. Dies würde bedeuten, dass bei Experimenten mit Seesternen geringerer Größe ebenfalls einige Adulttiere mit geringem Wachstum und höherem Alter als vermeintliche Juveniltiere betrachtet werden. Es muss insofern davon ausgegangen werden, dass in dieser Arbeit Tiere einer bestimmten Größenklasse (hier 1,8-2,5 cm) untersucht wurden und nicht unbedingt Tiere einer Altersklasse.

Die oben beschriebene Vermutung einer positiven Reaktion auf leicht versauerte Bedingungen konnte in diesem Experiment nicht bestätigt werden. Hier unterschieden sich Juveniltiere der mittleren $p\text{CO}_2$ -Behandlung (1100 μatm) bis zum Ende des Versuchs weder in Gewicht, Größe oder Fraß statistisch von den Kontrolltieren bzw. der höchsten $p\text{CO}_2$ -Behandlung. Dennoch konnte der gleiche Trend wie bei der 3130 μatm -Behandlung mit einer Abnahme im Mittel für Größe, Gewicht und Fraß im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden.

In den Ergebnissen des erwähnten Langzeitexperimentes von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009; vergleiche **Einleitung 4.2.6**) zeigt sich ebenfalls eine Abnahme des Größenwachstums, der Gewichtszunahme und der Fraßmenge mit zunehmendem $p\text{CO}_2$ -Gehalt der Behandlung. Es konnte hier nach 36 Wochen Versuchszeit ein signifikanter Unterschied der Biomassezunahme auch zwischen Kontrollbedingungen (650 μatm) und leichter Versauerung (1155 μatm) festgestellt werden (**Abb.43**). Für ein 27tägiges Fraß-Experiment wurden signifikante Abnahmen der Fraßmenge von Kontrolltieren zu den Tieren bei 1155 μatm und denen bei 3484 μatm festgestellt, wobei sich die letztgenannten Gruppen nur geringfügig unterschieden (**Abb.44**).

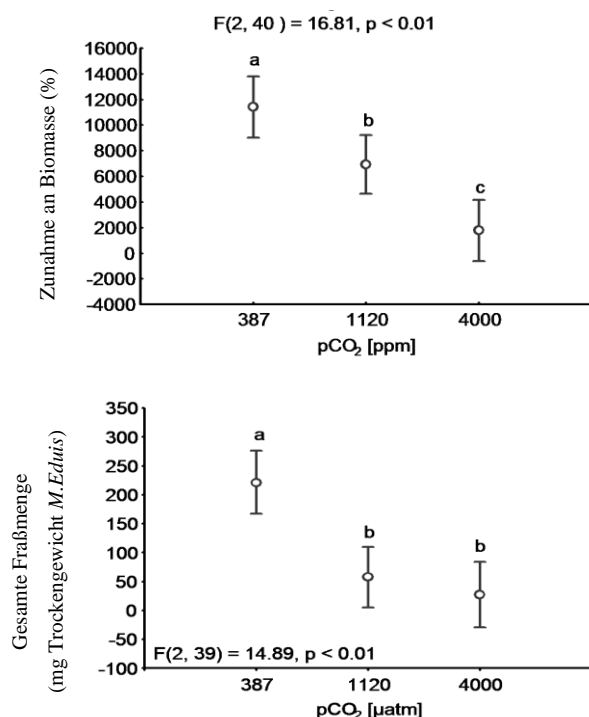


Abb.43 Gesamtzunahme an Biomasse über den neunmonatigen Langzeitversuch von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten 2009).

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Modifiziert nach: Präsentation „Young & Sour – Influences of Seawater Acidification on different parameters of juvenile *Asterias rubens*“

Abb.44 Gesamte Fraßmenge an mg *M. edulis* Trockengewicht über den neunmonatigen Langzeitversuch von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten 2009).

Mittelwerte \pm 95%-Konfidenzintervalle. Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede.

Modifiziert nach: Präsentation „Young & Sour – Influences of Seawater Acidification on different parameters of juvenile *Asterias rubens*“

Diese Daten lassen wegen der Ähnlichkeit der Versuchsbedingungen die Vermutung zu, dass bei einer Verlängerung des Kurzzeitexperimentes auch signifikante Unterschiede zwischen den Seesternen bei 690 und 1100 μatm feststellbar gewesen wären. Diese Vermutung kann anhand der sich weiter auseinanderentwickelnden Trends in den Entwicklungen von Größe, Gewicht und Fraß nachvollzogen werden (*Abb.15*, *Abb.18*, *Abb.21*). Wenn dadurch die oben erwogene Anpassungsfähigkeit für juvenile Seesterne an leicht versauerte Bedingungen abgelehnt wird, kann vermutet werden, dass ein Teil der in der Förde aufwachsenden Seesterne bereits heute unter nicht mehr für sie optimalen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen leben.

Ein möglicher Entwicklungsprozess kann anhand der gesammelten Daten dieses und des Langzeitexperiments demnach in drei Szenarien unterteilt werden: Ein Teil der Tiere in der Förde wäre demnach so resistent gegenüber gesteigertem $p\text{CO}_2$, dass sie regulär bis zur ursprünglichen adulten Größe wachsen. Für weniger Hyperkapnie-stresstolerante Tiere ergäben sich zwei Möglichkeiten: Entweder das beobachtete verminderte Wachstum bei manchen Tieren führte zwar zur ursprünglichen Größe, wofür die Tiere allerdings deutlich länger bräuchten (Stumpp et al. eingereicht 2010). Oder diese zweite Gruppe von Tieren wäre in ihrem maximalen Wachstum ebenfalls gehemmt, sodass sie insgesamt weniger groß würden. Dies würde für eine ausschließlich aus relativ resistenten Tieren bestehende Gruppe von Adulten sprechen, wobei sich dadurch Adulttiere in ihrer Reaktion auf hohe $p\text{CO}_2$ -Werte weniger deutlich zwischen den Behandlungen unterscheiden müssten. Da ein derartiger Trend in den Ergebnissen von Appelhans et al. (eingereicht 2011) beobachtet werden konnte, wird für den Großteil der Population die Möglichkeit mit resistenten, normalwachsenden Tieren und weniger resistenten Tieren mit verringerter Endgröße hier Vorrang gegeben.

Für eine eindeutige Beantwortung der Frage, ob Seesterne bei zumindest periodisch wiederkehrenden Versauerungsbedingungen von $p\text{CO}_2 = 3000+ \mu\text{atm}$ ihre ursprüngliche Größe erreichen können, wären mehrjährige Experimente notwendig. Durch einen Vergleich der Daten mit den Ergebnissen von Kowalski (1955) kann eine verminderte Endgröße für möglich gehalten werden, da Kowalski eine bereits verringerte Größe von Fördetieren im Vergleich zu Nordseetieren auf den erhöhten abiotischen Stress durch geringe Salinität und Fluktuationen der Umweltbedingungen zurückführt.

2.4 ÖKOLOGISCHE BEDEUTUNG

Nauen (1978) beschreibt, dass *Asterias rubens* in der Lage ist, ungünstige Bedingungen durch das Verharren in einem Wartestadium als Juveniltier zu überbrücken, um zu einem späteren Zeitpunkt günstige Umweltbedingungen für Wachstumsphasen zu nutzen. Eine mögliche Interpretation der hier gesammelten Daten ist, dass *A. rubens* zwar an die wechselnden und teils sehr hohen $p\text{CO}_2$ -Werte der westlichen Ostsee durch sein Ausharrungsvermögen angepasst ist, dass dieses Vermögen jedoch durch monatelang erhöhte $p\text{CO}_2$ -Werte an dessen Grenzen stoßen kann. Die unter Normalbedingungen ganzjährig stattfindende Rekrutierung von Adulttieren aus nachwachsenden Juvenilen (Nauen 1978)

könnte durch fortschreitende Seewasserversauerung behindert werden, wenn durch die Versauerung für einen Teil der Population über mehrere Monate kein Wachstum möglich ist. In dem hier beschriebenen Experiment wuchsen 1/3 der Tiere bei 3130 μatm nicht oder ihre Biomasse verringerte sich. Wenn bis 2100 von $p\text{CO}_2$ -Werten von zeitweise bis zu 4000 μatm in der Kieler Förde ausgegangen wird (Thomsen et al. 2010), lässt dies vermuten, dass ein noch größerer Anteil der Population bei diesen Bedingungen nicht wachsen wird.

Eine Reduktion der Biomasse von Seesternen als Schlüsselprädatoren (Saiger 2001) und als wichtiger Bestandteil der Gesamtbiomasse in der Kieler Förde (Nauen 1978) kann weitreichende Folgen auch auf Gemeinschaftsebene haben. Diese Vermutung deckt sich mit der von Collard et al. (2011) für *A. rubens* an der belgischen Küste. Appelhans et al. (eingereicht 2011) legen jedoch nahe, dass Veränderungen der Lebensbedingungen durch Ozeanversauerung auf der Gemeinschaftsebene zu puffernden Effekten führen können, wenn alle interagierende Organismen negativ beeinflusst werden. Somit müssen veränderliche Ökosystem-Zusammensetzungen wie bei Helmuth et al. (2006) nicht zwangsweise ein Effekt von Seewasserversauerung sein. Jernelöv & Rosenberg (1976) zeigen ebenfalls, dass die Stresstoleranz eines Ökosystems im Gegensatz zur gängigen Meinung in solchen Systemen höher sein kann, in denen wenige Arten an stark fluktuierende Umweltbedingungen adaptiert sind. Die Autoren argumentieren am Beispiel der artenarmen Ostsee, dass in solchen Ökosystemen die Resilienz gegenüber zusätzlich eingebrachten Stressfaktoren größer sein kann als bei Tieren in sonst als stabil erachteten, wenig fluktuierenden Ökosystemen.

Tiere (wie Seesterne in der westlichen Ostsee), die durch Stressfaktoren wie Salinität oder Temperatur an ihrer ökologischen Verbreitungsgrenze leben, können weiterhin als weniger resistent gegenüber zusätzlichem Stress angesehen werden (Pörtner & Knust 2007). Es wird somit anhand der von Nauen (1978) beschriebenen Verbreitungsgrenze von *A. rubens* bis zur Darßer Schwelle (östliche Grenze) und anhand der experimentell gesammelten Ergebnisse vermutet, dass *A. rubens* durch die Möglichkeit eines Wartestadiums als besonders tolerant gegenüber abiotischen Stressfaktoren wie Salinität und $p\text{CO}_2$ gesehen werden kann, dass jedoch aufgrund der Verbreitung von einer bereits erreichten Toleranzgrenze des Stresses ausgegangen werden kann. Eine weitere Erhöhung des abiotischen Stresses durch Seewasserversauerung kann zur kompletten Entwicklungshemmung bei einem bedeutenden Teil der Population führen, wenn keine weniger versauerten Bedingungen eine Wachstumsphase für die Tiere ermöglichen.

3. AKTIVITÄTSMESSUNGEN

Die beobachtete geringfügige (nicht-signifikante) Zunahme der Aktivität bei 3130 μatm widerspricht den Erwartungen, wonach durch Ozeanversauerung verursachte Schwierigkeiten für ein Tier energetisch ungünstig sind, sodass Einsparungen an anderer Stelle (z.B. bei der Aktivität) denkbar wären. Eine weitere gängige Annahme, warum eher mit einem Rückgang der Aktivität zu rechnen wäre, bezieht sich auf metabolische Depression (siehe **Diskussion 4.**). Bei unvorteilhaften Bedingungen können ein Vielzahl von Tieren ihren Metabolismus einschränken, um weniger energetische Verluste durch unvorteilhafte Umweltbedingungen einbüßen zu müssen. Guppy und Withers (1999) zeigen, dass die Respiration bei ähnlich aktiven Tieren (Bivalvia und Crustacea) auf 5-40% der Ruhe-Respiration durch metabolische Depression gesenkt werden kann (**Ergebnisse 4.2**).

Wenn davon ausgegangen wird, dass eine Verminderung der metabolischen Raten meist mit einem Rückgang der Aktivität einher geht (Guppy & Withers 1999), spricht der beobachtete Rückgang der Respiration (vergleiche **Diskussion 4.2** bzw. **Abb.28**) durch eine schlechtere Sauerstoffversorgung des Tieres eigentlich für einen abnehmenden Trend der Aktivität.

Für einen aktiven Lebensstil eines Tieres ist grade bei saurer Umgebung ein effizientes Ionenregulationssystem nötig um einer Versauerung durch hohe Atmungsraten entgegenzuwirken (Melnzer et al. 2009). Da *Asterias rubens* über ein derartiges System nicht verfügt (Appelhans et al. eingereicht 2011), wäre eigentlich mit einer Abnahme der Aktivität durch die mangelnde pH_e -Regulation bei hohem pCO_2 zu rechnen.

Eine mögliche Erklärung für eine gesteigerte Aktivität bei Ozeanversauerung wäre, dass hohe Aktivität das Auffinden von Muscheln wahrscheinlicher macht. Wenn davon ausgegangen wird, dass die Tiere bei hohem pCO_2 eventuell Schwierigkeiten mit dem Öffnen der Muscheln haben, könnte eine Reaktion der Tiere sein, nach Muscheln zu suchen, die sich leichter öffnen lassen. Es könnte dabei eventuell energetisch lohnenswerter für die Seesterne sein, durch erhöhte Aktivität passender Muscheln zu suchen als Schwierigkeiten mit dem Öffnen weniger-passender Muscheln zu kompensieren. Analysen zur Anzahl von Fraßversuchen pro Zeit müssten für die verschiedenen Behandlungen ins Verhältnis zur tatsächlichen Fraßrate gesetzt werden, um eine umfassende Aussage über eine eventuelle Verbindung zwischen Fraßveränderungen und Aktivitätsunterschieden treffen zu können.

Es ist abschließend festzuhalten, dass die Messungen der Aktivität aufgrund der auffällig großen Variabilität ohne eine Mittlung über mehrere Messungen nur wenig aussagekräftig sind. Den hier gesammelten Daten kann somit nur bedingt Bedeutung zugeordnet werden. Es konnten in den Langzeitversuchen von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) ebenfalls keine signifikante Änderung der Aktivitätsrate festgestellt werden. Der in diesen Experimenten beobachtbare Trend zeigte im Gegensatz zu den hier durchgeführten Versuchen eher eine Verringerung der Aktivität bei hohem pCO_2 .

4. METABOLISMUS-UNTERSUCHUNGEN

4.1 EXKRETION

Die in **Abb.27 (Ergebnisse 4.1)** gezeigte Steigerung (nicht-signifikant) der NH_4^+ -Exkretion widerspricht einerseits den Erwartungen, da zu Beginn des Experiments von einer gesamten Verringerung des Metabolismus als Stressantwort auf Seewasserversauerung ausgegangen wurde (z.B. gezeigt bei Langenbuch & Pörtner 2002 am Beispiel des marinen Wurms *Sipunculus nudus*). Andererseits entspricht der gefundene Trend den Ergebnissen anderer Autoren (Michaelidis et al. 2005; Thomsen & Melzner 2010), die einen Anstieg der Exkretion bei versauerten Bedingungen bei zwei *Mytilus*-Arten feststellen konnten. Boron (2004) vermutet, dass gesteigerte NH_4^+ -Exkretion für die Tiere eine Möglichkeit darstellt, durch gesteigerten Proteinabbau produziertes NH_3 mit freien Protonen zu verbinden und durch das Ausschleusen des Ammoniums die Homöostase der Körperflüssigkeit zu fördern. Diese Möglichkeit ist vor allem dann hilfreich, wenn die betroffenen Tiere keine anderen Regulationsmechanismen für die Homöostase, wie aktiven Ionentransport, besitzen.

Eine NH_4^+ -Exkretionssteigerung ist auch bei einem sinkenden extrazellulären pH notwendig, um die Homöostase des bei Seewasserversauerung zunehmend durch einströmende Protonen versauerten intrazellulären pHs (pH_i) zu ermöglichen (Thomsen & Melzner 2010). Ein Anstieg der Ammoniumexkretion wird für das Tier dadurch erschwert, dass ein Teil der durch Proteinabbau gesteigerten NH_3 -Produktion durch Diffusionsvorgänge verloren geht, bevor es als Ammonium ausgeschieden werden kann (Michaelidis et al. 2005). Für eine Netto-Steigerung der Protonenexkretion über NH_4^+ ist somit eine *de facto* noch höhere Protein-Degradation nötig.

Dass bei den hier untersuchten Tieren im Gegensatz zu den Ergebnissen von Thomsen & Melzner (2010) oder Michaelidis et al. (2005) keine signifikanten Unterschiede in der Ammoniumexkretion gefunden wurden, sondern nur der gleiche Trend, kann neben unterschiedlichen Versauerungsbedingungen (bei Michaelidis et al. bis 5200 μatm) eventuell auch an einer grundsätzlich verschiedenen Reaktion der Tiere auf Ozeanversauerung liegen: Bei *Mytilus galloprovincialis* wurde Schalenkorrosion mit potentiell letalen Effekte durch Kalzifizierungsaufösungen gefunden (Michaelidis et al. 2005) – bei Thomsen et al.(2010) wurde eine tendenzielle Änderung der Schalen-Mikrostruktur für *Mytilus edulis* nachgewiesen. Für diese Tiere ist eine möglichst effiziente Regulation der Homöostase durch gesteigerte Ammoniumexkretion eventuell überlebenswichtig, um ihren Kalzifizierungsproblemen entgegen zu wirken. Im Gegensatz dazu konnten bei *Asterias rubens* keine größeren Schwierigkeiten mit der Kalzifizierung festgestellt werden (siehe **Diskussion** ab 5.1), sodass eine deutliche Steigerung der Ammoniumexkretion wie bei Bivalvia durch energetisch ungünstige Proteindegradation (im Vergleich zu Lipid- und Kohlenhydrathnutzung ; Thomsen & Melzner 2010) eventuell weniger notwendig ist.

4.2 RESPIRATION

Die Ergebnisse für *Asterias rubens* zur Veränderung der Respirationsrate (**Abb.28**) mit steigendem Umgebungs- $p\text{CO}_2$ stimmt im Grundschemata mit den Ergebnissen anderer Autoren (Meyer 1936 In: Nauen 1978 [*A. rubens*] ; Michaelidis et al. 2005 [*Mytilus galloprovincialis*] ; Reipschläger & Pörtner 1996 [*Sipunculus nudus*]) überein und entspricht der Erwartung, dass gesteigerter Stress durch erhöhten $p\text{CO}_2$ zu einer Abnahme des Metabolismus führt (Guppy & Withers 1999 ; Pörtner et al. 2004). Thomsen und Melzner (2010) fanden für *Mytilus edulis* einen leichten Anstieg der Respiration bei geringfügiger Seewasserversauerung, die bei weiter steigendem $p\text{CO}_2$ wieder zu einem Rückgang der Respiration führte. Im Gegensatz dazu konnte eine gesteigerte O_2 -Aufnahme bei Erhöhung des $p\text{CO}_2$ für den Schlangenstern *Amphiura filiformis* von Wood et al. (2008) gezeigt werden. Stumpp et al. (eingereicht 2010) fanden ebenfalls für Larven des Seeigels *Strongylocentrotus purpuratus* einen Anstieg der Respiration bei $\text{pH}=8,1$ im Vergleich zu Tieren bei $\text{pH}=7,7$.

Trotz nicht-signifikanter Gewichtsunterschiede (siehe **Anhang 4.**) zwischen den Behandlungen verblieb ein kleiner Gewichtsunterschied zwischen den Behandlungen. Die potentiell etwas kleineren Tiere der 3130 μatm -Behandlung sollten aufgrund des Prinzips höherer Atmung bei kleinerer Körpergröße pro g Nassgewicht eine höhere Respirationsrate aufweisen als die etwas größeren Tiere bei 690 oder 1100 μatm . Auffällig ist dabei, dass die kleineren Tiere bei 3130 μatm dennoch pro g Nassgewicht weniger respirierten als die größeren Tiere der anderen Behandlungen. Dadurch wird vermutet, dass die *de facto* Abnahme der Respiration zwischen exakt gleichgroßen Tieren bei hohem $p\text{CO}_2$ noch deutlicher ausfiele.

Dass eine signifikante Abnahme der Respirationsrate nur zwischen den Bedingungen von 1100 und 3130 μatm beobachtet werden konnte, und dass die Kontrollen etwas weniger Atmung aufwiesen als die Tiere bei 1100 μatm , geht eventuell auf die bereits vorliegende Adaptation der Förde-Seesterne an gesteigerte $p\text{CO}_2$ -Werte zurück (siehe **Diskussion 2.3** ; **Abb.6**). Auch wenn oben eine Adaptation juveniler Tiere für Fraß und Wachstum abgelehnt wurde, könnte dennoch eine Adaptation der Respiration stattgefunden haben, da die physiologischen Prozesse eventuell einer unterschiedlichen Sensibilität gegenüber Hyperkapnie unterliegen. Daraus würde folgen, dass die Tiere bereits so stark an die jahreszeitlich bedingt hohen hyperkapnischen Bedingungen in der Förde adaptiert sind, dass eine Senkung des $p\text{CO}_2$ s für sie bereits einen unvorteilhaften Umweltfaktoren darstellt, der zu einer leichten Absenkung der Respiration führt. Die Aufrechterhaltung der Kompensationsprozesse unter Kontrollbedingungen könnte dabei langfristig energetisch zu nachteilhaft sein, um die Standard-Respirationsrate beizubehalten.

Als andere mögliche Hypothese könnte auch in Betracht gezogen werden, dass eine gesteigerte Respiration bis zu einem gewissen Grad vorteilhaft für das Tier ist, da durch den erhöhten CO_2 -Partialdruck in der Coelomflüssigkeit erhöhte Ventilation nach Außen erfolgen kann. Ab einem

gewissen Grad (bei *A. rubens* bei ca. 1200 μatm) könnte ein kritischer Wert überschritten sein, der für eine Einschränkung der Respiration sorgt.

Eine Verminderung des Metabolismus verhindert negative Effekte bei schwierigen bzw. stark fluktuierenden Umweltbedingungen wie beispielsweise in Gezeitenzonen. Die Regulation des Metabolismus stellt dabei eventuell eine evolutive Adaptation an die Umweltbedingungen dar (Thomsen & Melzner 2010). Eine derartige Anpassung an korrosives Tiefenwasser, welches durch *Upwelling*-Prozesse zu fluktuierend-hyperkapnischen Bedingungen in der Kieler Förde führt (Thomsen et al. 2010), scheint auch bei *A. rubens* eine Möglichkeit zu sein auf die zum Teil ungünstige Lebensbedingungen zu reagieren.

Die Einschränkung des Metabolismus‘ bei hyperkapnischen Bedingungen kann auf einen intrinsischen Prozess zurückgeführt werden, bei dem die Tiere aktiv durch ein abiotisches Signal die Respirationsrate senken, um Effekte unvorteilhafter Umweltfaktoren einzuschränken (Guppy & Withers 1999). Häufiger werden jedoch die Respirationsraten durch den physiologischen Effekt von vermindertem O_2 -Gehalt bei gesteigertem CO_2 -Gehalt verursacht (Guppy & Withers 1999 ; Michaelidis et al 2005). Aufgrund der bei *A. rubens* beobachteten Reduktion der Respiration auf immer noch über 50% wird hier von einer weitestgehend passiven, physiologischen Reaktion ausgegangen. Dass der Respirationsrückgang etwa bei Michaelidis et al. (2005) einen deutlich größeren Rückgang aufweist, könnte dabei an den bei diesen Autoren verwendeten höheren $p\text{CO}_2$ -Bedingungen liegen (Rückgang auf ca. 1/3 des Standard-Metabolismus bei ca. 5200 μatm).

Bei aktiven Tieren wird eine Abnahme des pH_e s dadurch wettgemacht, dass Bicarbonationen im Extrazellularraum angereichert werden und die positive Ladung der Protonen ausgleichen wird. Ist dieser aktive Transport von Ionen wie bei *A. rubens* nur geringfügig ausgebildet, kann eine Kompensation des ohnehin schon angesäuerten Extrazellularraums (Appelhans et al. eingereicht 2011, **Abb.5**) nur schlecht durchgeführt werden. Es wird darum angenommen, dass metabolische Depression einem bereits verringerten pH_e entgegenwirkt und die Tiere so vor einer weiteren Versauerung der Coelomflüssigkeit bewahrt.

Von Pörtner et al. (1998) (und anderen, z.B. Michaelidis et al. 2005) wurde angenommen, dass eine Absenkung des pH_e als Signal für eine Senkung der Zellatmungsraten dienen könnte, um Zellschädigungen oder Zelltod durch Übersäuerung zu verhindern. Somero (1985) berichtet, dass eine Senkung des intrazellulären pH_i s für eine Senkung der Aktivität von mehreren Enzymen verantwortlich ist, die wiederum eine Senkung des Metabolismus‘ hervorrufen können. Reipschläger und Pörtner (1996) zeigen, dass eine Absenkung des pH_e und nicht des pH_i mit einer Reduktion der Metabolismusraten korreliert. Es wurde dabei vermutet, dass der Regulationsmechanismus des pH_e s für die Absenkung des Metabolismus‘ bei respiratorischer Azidose über eine Verminderung des Netto-Protonenflusses an Zellmembranen stattfindet (Reipschläger und Pörtner 1996).

Es liegt zwar durch die beschriebenen Experimente hier für die Hypothese der pH_e -gesteuerten Metabolismusraten kein Gegenbeweis vor, aber die Tatsache, dass der pH_e von *A. rubens* mit der Seewasserversauerung kontinuierlich fällt (Appelhans et al. eingereicht 2011; **Abb.5**), lässt bei einem Vergleich der hier gesammelten Daten vermuten, dass die Steigung der Respiration von 690 μatm zu 1100 μatm nicht (alleine) durch den pH_e reguliert werden konnte. Sollte eine Regulation über der pH_e hier stattfinden, ist dies wahrscheinlich erst ab einem gewissen Grad der Versauerung der Fall.

4.3 O:N-VERHÄLTNIS

In **Abb.29** wurde die beobachtete signifikante Abnahme des Verhältnisses von Sauerstoff-Aufnahme zu NH_4^+ -Abgabe (O:N-Verhältnis) bei hohen $p\text{CO}_2$ -Bedingungen dargestellt. Die beobachteten Ergebnisse decken sich mit denen von Thomsen & Melzner (2010) und denen von Michaelis et al. (2005), wobei die Ergebnisse letzterer deutlichere Abnahmen des O:N-Verhältnisses bei hohen $p\text{CO}_2$ – Werten aufweisen als dies bei den hier verwendeten Seesternen der Fall war. Aufgrund der zu den Respirationswerten proportional kleinen Exkretionswerte folgt die zunächst steigende und dann stark sinkende Entwicklung (**Abb.29**) des O:N-Verhältnisses weitestgehend dem Muster der Respirationsveränderung.

Mayzaud & Conover (1988) beschreiben, dass ein geringeres Verhältnis von O:N für eine erhöhte Energiegewinnung aus Protein steht, wobei die erhöhte Degradation des Eiweißes zu einer erhöhten Ausscheidung an Stickstoff führt. Die Autoren geben an, dass O:N-Verhältnisse von etwa 3-16 einem reinen Proteinstoffwechsel entsprechen, während Werte von 50-60 für eine Umsetzung von Protein und Lipiden zu gleichen Teilen stehen. Es wird dabei darauf hingewiesen, dass diese Werte für verschiedene Tiergruppen veränderlich sein können und ebenfalls bei unterschiedlichen Temperaturen und Jahreszeiten zu verschiedenen Ergebnissen führen. Untersuchungen zu O:N-Verhältnissen bei Echinodermaten liegen als Referenzwerte bisher nicht vor. Den Angaben von Mayzaud & Conover (1988) zufolge müssten alle Seesterne fast ausschließlich Proteine als Nahrung zu sich nehmen, was auch mit einem Proteingehalt von *M. edulis* zwischen 50-80 % am aschefreien Trockengewicht übereinstimmt (Okumuş & Stirling 1998).

Es wurde oben (**Diskussion 4.2**) beschrieben, dass Tiere mit schlechterem Ionentransportsystem einen erhöhten Proteinumsatz mit erhöhter NH_4^+ -Exkretion als Möglichkeit der Homöostase-Regulation bei Ozeanversauerung nutzen können. Dass *Asterias rubens* diese Möglichkeit ebenfalls nutzt, lässt sich aus den Ergebnissen in **Abb.29** vermuten. Die beobachteten Unterschiede zwischen den Behandlungen sind dabei proportional deutlich größer als bei Thomsen & Melzner (2010), wobei die Werte bei einigen Tieren bei 3130 μatm fast bis auf 0 abfallen, wenn deren Exkretion proportional größer als die Atmung war.

Geringe Werte beim O:N-Verhältnis sind auch typisch für katabolisch lebende bzw. hungernde Tiere, bei denen Energie aus Biomasse gewonnen wird. Die Einschränkung der Respiration geschieht dabei mit andauerndem Hungern bei vielen Tieren gleichmäßig, während die Änderung der Exkretion für

jedes Tier spezifisch ist, sodass ein unterschiedliches Bild der O:N-Veränderung entsteht (Mayzaud & Conover 1988). Da bei den untersuchten Seesternen bei 3130 μatm 6 von 18 Tieren einen stagnierenden oder katabolischen Energieumsatz aufwiesen, kann davon ausgegangen werden, dass die abnehmenden O:N-Verhältnisse bei hohen $p\text{CO}_2$ s nicht nur auf eine gesteigerte NH_4^+ -Exkretion zur Homöostasen-Regulation zurückzuführen sind, sondern auch auf die Katabolismus-bedingte Steigerung der Proteindegradation. Fette und Eiweiße machen je etwa 30% des Trockengewichts von *A. rubens* in der Kieler Förde aus (Umrechnung von Daten aus Kowalski 1955). Ein hauptsächlicher Proteinabbau bei den katabolisch lebenden Tieren müsste somit die Voraussetzung sein, um das O:N-Verhältnis auf derart niedrige Werte zu senken.

Mayzaud & Conover (1988) beschreiben, dass bei katabolisch lebenden Tieren zunächst nicht-essentielle Aminosäuren abgebaut werden um Mangelerscheinungen zu vermeiden. Eine genaue Zuordnung der bei den katabolisch lebenden Tieren meist verbrauchten Aminosäuren ist anhand der gesammelten Daten nur schwer möglich – bei Mayzaud & Conover (1988) finden sich für O:N-Verhältnisse < 4 nur die Aminosäuren Glutamin, Glutaminsäure, Prolin, Asparagin und Glycin (alle zumindest beim Menschen nicht-essentiell), sodass deren vermehrter Abbau bei den Tieren unter 3130 μatm wahrscheinlich ist.

4.4 SCOPE FOR GROWTH

Sinkende Werte für den *Scope for Growth* können beobachtet werden, wenn Tiere durch steigenden Umweltstress belastet wurden (Widdows & Johnson 1988 [Stress durch Rohöl] ; Shirley & Stickle 1982 [Stress durch geringe Salinität] ; Stumpp et al. eingereicht 2010 [Stress durch Hyperkapnie]). Ein sinkender *Scope for Growth* steht bei gleicher Fraßmenge für weniger zum Wachstum verfügbare Energie, wobei die Abweichung zur tatsächlichen Fraßmenge durch Energieverbrauch in Respiration und Exkretion ausgemacht wird. Stumpp et al. (eingereicht 2010) zeigen einen von der Körpergröße unabhängigen verminderten *SfG* bei hyperkapnischen Bedingungen ($\text{pH } 8,1 \rightarrow 7,7$ für Larven des Seiegels *Strongylocentrotus purpuratus*).

Neben den geringeren Fraßraten bei hohem $p\text{CO}_2$ wurde für *A. rubens* auch mit einer für das Wachstum verminderten Energieverfügbarkeit als Effekt gesteigerter energetischer Kosten gerechnet (Stumpp et al. eingereicht 2010). Die Verringerung des *SfG* bei *A. rubens* auf 1/3 der Kontrollwerte (**Abb.30**) weist auf eine deutlich verringerte Fraßmenge hin. Außerdem zeigt die Abnahme, dass die energetischen Kosten durch die gesteigerte Exkretion und die proportional zur Fraßmenge (trotz des absoluten Abfalls, **Abb.35**) gestiegene Respiration so groß ist, dass als Bilanz für einige Tiere ein negativer *SfG* zustande kommt. Tiere mit einer solchen Bilanz investieren alleine in Exkretion und Respiration so viel Energie, dass eine anabolische Entwicklung für sie ausgeschlossen ist. Weitere energetische Belastungen durch erhöhten CO_2 -Stress, welche Energie vom Saldo für das Wachstum abziehen, werden im *SfG* nicht beachtet. Eine Diskussion dieser möglichen Faktoren findet im folgenden Abschnitt **Diskussion 4.5** statt.

Der *SfG* wird maßgeblich durch die aufgenommene Fraßmenge bestimmt. Ob die Fraßmenge in der gleichen Zeit bei gleichgroßen Tieren zwischen den Behandlungen variiert, konnte in diesen Experimenten aufgrund der großen Variabilität und der wenigen gleichgroßen Tiere zwischen den Behandlungen nicht ausgemacht werden. Eine größenproportional verringerte Fraßrate könnte neben der zu geringen Fraßmenge bei veränderter Energienutzung eine weitere Erklärung für das verminderte Wachstum sein. Für eine proportional verminderte Fraßrate spricht beispielsweise eine Verminderung der Leistungsfähigkeit des Verdauungstrakts bei *Asterias rubens* durch verminderte enzymatische Aktivität bei Unterschreitung dessen pH-Optimums (Toleranzbereich: pH 8,4 - 6,8) durch versauerte Umgebungsbedingungen (Irving 1926, Appelhaus et al. eingereicht 2011).

4.5 ENERGETISCHE EFFIZIENZ UND BILANZ DER ENERGIENUTZUNG

Weicht der *Scope for Growth* bedeutend von der in Wachstum umgesetzten Energie ab, lässt dies auf einen erhöhten Energiebedarf für weitere Lebensprozesse oder aber eine weniger effiziente Energieumsetzung der aufgenommenen Nahrung schließen.

Für das Verhältnis von aufgenommener Energie zu aufgebauter Energie (in Biomasse – **Abb.32**) sowie für das Verhältnis von *SfG* zu aufgebauter Energie (**Abb.34**) konnten zwischen den Behandlungen nur geringfügige, nicht-signifikante Unterschiede gefunden werden. Es lässt sich daraus schließen, dass die Energie, die den Tieren zum Wachstum zur Verfügung stand, ungefähr von allen Behandlungen mit der gleichen Effizienz in Biomasseaufbau umgesetzt werden konnte. Die geringfügige Verringerung der energetischen Effizienz der Nahrungsumsetzung bei 3130 μatm (**Abb.34**) lässt zwei Schlüsse zu: Erstens könnte das Mehr an aufgebauter Energie der Kontrolltiere bei gleichem *SfG* zeigen, dass die Tiere bei 3130 μatm beispielsweise Schwierigkeiten mit der enzymatischen Umsetzung der Fraßmenge haben (siehe **Diskussion 4.4**) und somit weniger effizient ihre Nahrung umsetzen können. Zweitens könnte die Differenz zwischen den Kontrolltieren und den Tieren bei 3130 μatm darin begründet sein, dass die Tiere bei 3130 μatm Energie vom *SfG* in regulative Prozesse investieren müssen, um die Azidose zu kompensieren, sodass netto weniger Energie für den Wachstumsprozess zur Verfügung bleibt. Es wird unten (**Diskussion 5.**) gezeigt, dass die Kalzifizierung weitestgehend unverändert bleibt, weswegen vermutet werden kann, dass die Tiere zwar weiterhin in der Lage sind zu kalzifizieren, dass dieser Vorgang allerdings energetisch kostspieliger ist (Stumpp et al. eingereicht 2010 ; Thomsen & Melzner 2010).

Ein Vergleich der mittleren Energiebilanz der drei Behandlungen (**Abb.35**) zeigt, dass sich nicht nur eine quantitative Abnahme der Energieumsetzung mit steigendem pH ändert, sondern dass auch eine qualitative Umstrukturierung der Energienutzung stattfindet, die beispielsweise auch bei Thomsen & Melzner (2010) für *Mytilus edulis* vermutet wurde. Die in **Abb.35** dargestellten Unterschiede bei Respiration, Exkretion, *SfG* (und dessen Verhältnis zur aufgebauten Energie) wurden bereits oben dargestellt (**Ergebnisse 4.4.3**). In **Abb.35** wird zusätzlich deutlich, dass sich das Verhältnis zwischen aufgenommener Energie und überhaupt umgesetzter Energie (also für Respiration, Exkretion und

Wachstum) ändert, wobei mit steigendem $p\text{CO}_2$ ein steigender Anteil der aufgenommenen Energie keinem der untersuchten Prozesse zuzuordnen ist. Diese überschüssige Energie muss jedoch von den Tieren für einen weiteren physiologischen Prozess genutzt werden, wenn eine grundsätzliche Verschlechterung der energetischen Effizienz der Gesamtphysiologie ausgeschlossen wird. Neben den oben erwähnten zusätzlichen Kosten für die Aufrechterhaltung der Kalzifizierung, ist es naheliegend, dass bei erhöhtem $p\text{CO}_2$ auch mehr Energie für die Homöostase des pH_i aufgewendet werden muss (Thomsen & Melzner 2010, Michaelidis et al. 2005). Leong & Manahan (1997) zeigen beispielsweise für die Larven des Seeigels *Strongylocentrotus purpuratus*, dass 40% der für die Respiration verbrauchten Energie alleine für Ionenregulation benötigt wird. Ein erhöhter Energiebedarf für die Na^+/K^+ -ATPase bei dennoch gleichbleibender Aktivität selbiger konnte von Deigweier et al. 2010 am Beispiel antarktischer Fische bei hyperkapnischen Bedingungen gezeigt werden. Diese Veränderung wurde von den Autoren als Maß für die energetischen Kosten der pH_i -Regulation identifiziert. Unter anderem könnte somit eine Steigerung des Energiebedarfs für die pH_i -Regulation auch im natürlichen Lebensraum bei *A. rubens* zu einer Verschiebung des Energie-Nutzungsmusters führen, wie es in **Abb.35** gezeigt wird.

5. UNTERSUCHUNGEN DER KALZIFIZIERUNG

Die Effektstärke von Ozeanversauerung (pH-Abnahme bis -0,4) auf die Kalzifizierung von juvenilen Echinodermaten (Analyse von 3 Arten) wurde bei Dupont et al. (2010a) in einer Metaanalyse mit 0.70 ± 0.13 (Mittel \pm Std.Abw.) beschrieben. Auf den gesamten Lebenszyklus bezogen konnte für die Kalzifizierung eine Effektstärke von 0.77 ± 0.08 (10 untersuchte Arten) aufgezeigt werden, wobei Adulttiere in ihrer Kalzifizierung positiv durch Versauerung beeinflusst wurden und Juveniltiere und Larven in gleichem Maße negativ betroffen sind. Die Analyse der Skelettintegrität zeigte weniger eindeutige Effekte mit zwei negativen und drei nicht-signifikanten Änderungen (Dupont et al. 2010a). Es wurde anhand dieser Ergebnisse und der ausbleibenden Regulation des extrazellulären pHs (**Abb.5**) ursprünglich erwartet, dass auch bei *Asterias rubens* Kalzifizierungs-Verringerungen bei versauerten Bedingungen feststellbar sein könnten.

Die quantitative Untersuchung der Kalzifizierung (**Abb.36**) zeigte jedoch nach knapp sieben Wochen (6 Wochen Versuch + Metabolismusuntersuchungen) unter Versuchsbedingungen keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich des Skelettgewichtsanteils am Trockengewicht. Im Mittel konnte bei 3130 μatm ein geringfügig erhöhter Skelettanteil beobachtet werden. Auch in den Langzeitversuchen von Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) zeigten sich keine Unterschiede in der Kalzifizierung bei unterschiedlichen Versauerungsbedingungen. Es konnte durch Appelhans & Thomsen (unveröffentlichte Daten, 2009) gezeigt werden, dass die Größe keine signifikante Auswirkung auf den proportionalen Anteil der Kalzifizierung am Trockengewicht hat. Dennoch könnte ein verbleibender, geringer Größeneffekt bei den kleineren Tieren bei 3130 μatm zu einer leichten Erhöhung des Kalzifizierungsanteils geführt haben.

Es wurde angenommen, dass bei nicht-pH_e-regulierenden Tieren eine Verringerung des pH_es ein Absinken der Carbonationen-Konzentration und des pHs am Ort der Kalzifizierung auslöst, wodurch eine verminderte Kalzifizierung verursacht werden kann (Stumpp et al. eingereicht 2010). Reguläre Fortsetzung der Kalzifizierung hängt meist mit effizienter pH_e-Regulation zusammen, welche den Transport von HCO_3^- durch kalzifizierende Epithelien fördert und den Sättigungszustand (Ω) der Kalkkristalle am Ort der Kalzifizierung anheben könnte, um Kalzifizierung zu erleichtern (Thomsen & Melzner 2010). *A. rubens* weicht von diesen Erwartungen insofern ab, als dass kaum pH_e-Regulation stattfindet (Appelhans et al. eingereicht 2011 ; **Abb.5**), jedoch gleichzeitig keine nennenswerte Änderung der quantitativen Kalzifizierung beobachtet werden konnten (**Abb.36**). Die mit der Aufrechterhaltung der Kalzifizierung einhergehenden zusätzlichen energetischen Kosten (Deigweier et al. 2010) unter löslichen Bedingungen (**Tab.2**) müssen vermutlich durch Einbußen bei anderen Prozessen (Wachstum, Respiration) wettgemacht werden.

Die qualitativen Analysen (**Abb.37** bis **Abb.42**) der Kalzifizierung über die Pilotstudie mit Röntgen- und CT-Aufnahmen zeigen, dass trotz der oberflächlich ausbleibenden Veränderung der

Kalzifizierung bei zunehmender Versauerung Strukturänderungen stattfinden, die bei quantifizierenden Untersuchungen aufgrund der Messungenauigkeit nicht beobachtet werden konnten. Eine Ergänzung der Trocknungs- und Vermuffelungsmethode mit den hier gewählten qualitativen Methoden ist somit keine reine Überprüfung der zuvor gesammelten Ergebnisse, sondern kann zusätzliche Informationen über den Kalzifizierungszustand der Tiere geben.

Die Aufnahme der Röntgenbilder (**Abb.37**) sollte zunächst nur einen Überblick über grobe Kalzifizierungsunterschiede verschaffen. Es zeigte sich jedoch im Vergleich zu den Dichteanalysen der CT-Aufnahmen (**Abb.41**), dass ein ähnliches Muster zwischen den Behandlungen bei den Röntgenanalysen beobachtet werden konnte. Somit scheint es, wenn auch unüblich, möglich, Röntgenbilder auch als Methode für eine genauere Bestimmung von räumlichen Kalzifizierungsunterschieden zu nutzen.

Es zeigte sich auf den Röntgenbildern, dass pro Armlänge mehr Ambulakraltbögen aufgebaut wurden, wenn die Tiere unter Normalbedingungen gehalten wurden (**Abb.38**). Eine erhöhte Anzahl von Ambulakraltbögen steht dabei für einen höheren Lastwiderstand gegen die Muskeln der Arme bzw. die Kraft der Ambulakralfüßchen (Eylers 1976 ; Stauber & Märkel 1988). Es lässt sich daraus schließen, dass mit erhöhter Anzahl an Ambulakraltbögen eine geringere Belastung z.B. beim Öffnen von Muscheln für jeden einzelnen Bogen besteht. Die Anzahl der Ambulakraltbögen pro Armlänge ist bei den hier gemessenen Werten wiederum deutlich höher als bei den Werten von Eylers (1976).

In **Abb.41** wird gezeigt, dass die Dichte des Kalkskeletts ebenfalls geringfügig (und nicht-signifikant) bei höherem $p\text{CO}_2$ abnahm. Eylers (1976) berichtet zusätzlich, dass aufgrund der Leistungsfähigkeit der Ambulakralfüßchen (rechnerisch) nur $\frac{1}{4}$ der Füße benötigt wird, um eine Muschel zu öffnen. Aus den gesammelten Daten ließe sich vermuten, dass die Stabilität der Ambulakraltbögen eventuell näher an ihrer maximalen Belastbarkeit liegt als das für die Ambulakralfüße der Fall ist und dass somit im Rahmen von Ozeanversauerung eine verminderte Stabilität durch zusätzliche Ambulakraltbögen ausgeglichen werden muss.

Die untersuchten Tiere unterschieden sich bei allen qualitativen Untersuchungen jeweils um einen ähnlichen Faktor zwischen den Kontrolltieren und den Tieren bei 1100 μatm , wobei nur bei den Röntgenuntersuchungen signifikante Unterschiede festgestellt wurden. Es zeigte sich, dass in allen Untersuchungen die Tiere bei 1100 μatm etwa nur 90 % der Kalzifizierungsqualität der Kontrolltiere aufwiesen. Dass der Unterschied zwischen den Graustufen der Armspitzen hier etwa gleich groß ist wie bei den Graustufen der ganzen Tiere, zeigt, dass in der im Versuch neu kalzifizierte Zone etwa proportional gleich viel Kalk aufgebaut wurde wie in den Teilen des Tieres, die schon vor Versuchsbeginn Kalkelemente enthielten. Es wird somit vermutet, dass es für die Tiere keinen Unterschied macht, ob sie Kalkstrukturen ganz neu aufbauen oder bestehende Strukturen erweitern.

Eine strukturelle Veränderung der Morphologie von Echinodermaten durch Ozeanversauerung wurde auch bei Wood et al. (2008) beschrieben. Die dort gezeigten Änderungen für *Amphiura filiformis* wurden von Wood et al. als Anzeichen für langfristig verminderte Respiration, Fraß und Überleben

gewertet. Der bei diesen Autoren beschriebene Rückgang an Muskelmasse bei gleicher oder gesteigerter Kalzifizierung hätte eventuell bei *A. rubens* eine geringere Bedeutung, da das Fressen von Muscheln bei dieser Art von der Funktionsfähigkeit der Ambulakralfüßchen abhängt und weniger von der Integrität der Muskeln der Arme (Eylers 1976).

Aufgrund der geringen Replikation und dem gegenläufigen Trend zu den Vermufflungsversuchen wird hier davon ausgegangen, dass Kalzifizierungsunterschiede trotz fehlender pH_e -Regulation bei *A. rubens* sehr gering ausfallen und dass für eine Aussage über qualitative Unterschiede eine größere Anzahl von Tieren untersucht werden müsste. Dennoch zeigt diese Pilotstudie, dass strukturelle Differenzen der Kalzifizierung mit gängigen Methoden leicht übersehen werden können, obwohl diese Unterschiede bedeutende Einflüsse auf z.B. das Fraßverhalten und damit das beobachtete verminderte Wachstum haben können. Im Vergleich zu den von Eylers (1976) erhobenen Daten fällt auf, dass die bereits im Wachstum gehemmten Ostsee-Seesterne (Kowalski 1955) bereits im Vergleich zu Ozeantieren weniger Ambulakraltbögen pro Armlänge aufweisen. Falls die oben aufgestellte Hypothese der Kompensation geringerer Skelettfestigkeit durch gesteigerte Anzahl von Ambulakraltbögen zutrifft, könnte angenommen werden, dass die Ostseetiere insgesamt bereits über ein weniger stabiles Skelett verfügen als Ozeantiere. Für eine Überprüfung dieser Vermutung wäre eine qualifizierende Untersuchung der Skelettbildung von etwa Nordsee- und Ostseetieren notwendig.

6. AUSBLICK

In der hier gezeigten Studie konnten negative Einflüsse von Ozeanversauerung auf die Entwicklung juveniler Seesterne nachgewiesen werden. Diese Arbeit untersuchte aufgrund ihres Umfangs als Ergänzung zu einem Langzeitexperiment nur kurzzeitige Effekte von Ozeanversauerung – gleiches gilt etwa für Ries et al. (2009), Michaelidis et al. (2005), Dupont et al. 2010a. Langzeitstudien werden jedoch benötigt, um mindestens bei einer Lebensphase einer Art ausschließen zu können, dass negative Effekte bzw. Adaptationsprozesse nicht erst nach längerer Zeit auftreten.

Die Stärke der kurzen experimentellen Dauer lag hier in der besseren Vergleichbarkeit von Tieren unterschiedlicher Behandlungen, da sich diese noch weniger in ihrer Größe unterscheiden als dies nach Langzeitexperimenten der Fall ist. Es war somit in dieser Studie möglich, Anhaltspunkte für die durch Hyperkapnie-Stress verursachten Veränderungen der metabolischen Raten, der Nutzung von Energie oder der qualitativen Änderungen der Kalzifizierung bei juvenilen *Asterias rubens* zu erlangen.

Für *A. rubens* liegt bisher keine Analyse der Reaktion auf hohen Seewasser $p\text{CO}_2$ für alle relevanten Lebensphasen (Fortpflanzung, Befruchtung, Larvenstadien, Metamorphose, Juvenil- und Adultphasen) vor. Eine verlässliche Gesamtbeurteilung der Anfälligkeit einer Art für Seewasserversauerung kann jedoch nur unter Berücksichtigung aller Lebensphasen getroffen werden. Folglich sind zukünftig auch experimentelle Planungen von größerem skalarem bzw. dimensionalem Umfang (*Up-Scaling*) nötig, um etwa die in dieser Arbeit vorgeschlagenen Hypothesen über die ökologische Bedeutung von Seewasserversauerung überprüfen zu können.

Es wird weiterhin nötig sein, neben den Lebensphasen die Untersuchung auf intra-Populationsvariabilität, inter-Populationsvariabilität und Ökosystem-Interaktionen auszuweiten, um Aussagen über den Einfluss der Versauerung auf eine spezifische Art treffen zu können (Dupont et al. 2010b). Um beispielsweise Ökosystem-Interaktionen besser verstehen zu können, wären etwa großangelegte Versauerungsversuche möglich, in denen im natürlichen Lebensraum interagierende Arten gemeinsam hyperkapnischen Bedingungen ausgesetzt sind, um die wichtige Frage beantworten zu können, ob und wie sich die Ökosystem-Zusammensetzung verändern könnten. In diesem Rahmen wäre grade für ein wenig artenreiches Ökosystem, wie das der westlichen Ostsee, eine Modellierung der Ökosystem-Zusammensetzung möglich, um Aussagen über die Veränderung der Gemeinschaft bei steigendem $p\text{CO}_2$ treffen zu können. Hierfür wären jedoch standardisierte Protokolle für Versauerungsexperimente wünschenswert, um leichter Ergebnisse verschiedener Autoren vergleichen zu können bzw. um Daten verschiedener Arten verlässlicher gemeinsam auswerten zu können.

Die Auswertung der Kalzifizierungsuntersuchungen für *A. rubens* zeigten, dass Unterschiede in Details der beobachteten Veränderungen liegen können, deren Beachtung für das Verständnis der Gesamtreaktion bedeutend sein könnte, auch wenn diese oberflächlich keine ökologischen Auswirkungen nach sich ziehen. Es muss somit in vielen Fällen noch an der Genauigkeit der Untersuchungsmethoden gearbeitet werden. Beispielsweise bleibt immer noch unklar, ob, in welchem

Maße und – wenn ja – warum der Rückgang der Fraßraten auch durch eine allgemein kleinere Größe der Tiere bedingt ist. Es wäre hierbei etwa interessant, ob eine Veränderung des Fraßverhaltens (also etwa Fraßversuche pro Zeit oder die Analyse von deren Effizienz) durch hyperkapnische Bedingungen ausgelöst wird. Andererseits bliebe für die Kalzifizierung zu klären, ob die beobachteten Änderungen der Skelettstruktur für eine größere Anzahl von Tieren zutreffend sind und ob tatsächlich Einbußen der Stabilität der ursprünglichen Form zu einer Änderung der Struktur führen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Ozeanversauerung wird durch gesteigerte Lösung von (anthropogenem) CO_2 im Meerwasser verursacht, was derzeit in einem Umfang geschieht, der für die letzten Jahrmillionen nicht nachgewiesen wurde. Bei einer bis zum Ende des Jahrhunderts prognostizierten Verdoppelung des marinen CO_2 -Gehalts ist mit Schwierigkeiten besonders bei kalzifizierenden Tieren zu rechnen. Untersuchungen von Tieren, die in Regionen mit natürlich erhöhtem Seewasser- $p\text{CO}_2$ leben, können Auskunft darüber geben, ob diese Art zur Adaptationsfähigkeit bei Ozeanversauerung in der Lage ist bzw. in wie weit die Toleranzfähigkeit der Tiere gegenüber diesem abiotischen Stressor ausgeprägt ist.







In einem sechswöchigen Durchfluss-Experiment mit drei Versauerungsbehandlungen ($p\text{CO}_2 = 690$, 1100 und 3130 μatm) wurden die Effekte von Seewasserversauerung auf *Asterias rubens* anhand verschiedener Parameter untersucht. Nach dem Experiment wurden zunächst metabolische Messungen durchgeführt, mit denen auch Aussagen über die Energienutzung der Tiere getroffen werden konnten. Abschließend wurden quantifizierende und qualifizierende Untersuchungen zur Kalzifizierung durchgeführt. Die beobachteten Veränderungen der untersuchten Parameter werden in **Tab. 4** zusammengefasst. Die gefundenen Daten stimmen weitestgehend mit bereits gefundenen Daten eines neunmonatigen Versauerungsexperiments mit juvenilen *A. rubens* überein. Für weitere Parameter konnten ebenfalls Übereinstimmungen mit den Daten anderer Autoren gefunden werden.

Tab. 3

Übersicht über die Ergebnisse für alle untersuchten Parameter zum Einfluss von Seewasserversauerung auf den gemeinen Seestern *Asterias rubens*. Kennzeichnung positiver Reaktionen auf Seewasserversauerung mit „+“, negativer Reaktionen mit „-“ und nicht-signifikanter Änderungen mit „0“. Mini-Grafen zeigen beobachtete Trends bei von links nach rechts steigendem $p\text{CO}_2$ (signifikante Veränderungen rot, nicht-signifikante schwarz).

Die Ergebnisse beziehen sich auf die Änderung nach sechs Wochen unter Versuchsbedingungen.

Beobachteter Parameter		Reaktion der Tiere bei den höchsten Versauerungsbedingungen (3130 μatm)	Beobachteter Trend bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ s
			690 μatm 1120 μatm 3130 μatm
Wachstum	Gewicht	-	
	Mortalität	Keine Mortalität beobachtet.	
	Größe	-	
Fraß	Fraßraten	-	
Aktivität	Umkehr-Zeiten	0	
Metabolismus	O_2 -Aufnahme	- (metabolische Depression)	
	NH_4^+ -Exkretion	0 (beobachteter steigender Trend)	
	O:N-Verhältnis	- (gesteigerter Proteinumsatz)	
	SfG	- (weniger Energie fürs Wachstum zur Verfügung)	

Beobachteter Parameter		Reaktion der Tiere bei den höchsten Versauerungsbedingungen (3130 μatm)	Beobachteter Trend bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ s
	Energetische Effizienz als <i>SfG</i> vs. Aufgebaute Biomasse	0 (Trend zu geringerem Energieaufbau bei gleichem <i>SfG</i>)	
Kalzifizierung	Anteil des Skelettgewichts am Trockengewicht	0	
	Röntgen-Analyse: Kalzifizierung der Zuwachszonen	-	
	Röntgen-Analyse: Kalzifizierung des gesamten Tieres	-	
	Röntgen-Analyse: Änderung der Skelettstruktur als Anzahl der Ambulakralkbögen pro mm Armlänge	+	
	CT-Analyse: Dichte des Skeletts	-	

Der beobachtete Rückgang des Wachstums ging mit einem Rückgang der Fraßraten einher, statistisch signifikante Unterschiede konnten für Gewichts-, Größen-, und Fraßentwicklung nach fünf bzw. sechs Wochen unter Versuchsbedingungen gezeigt werden. Es wurde beobachtet, dass durch proportional gesteigerte Exkretion und metabolische Depression die zum Wachstum verfügbare Energie (*Scope for Growth*) bei starker Versauerung deutlich abnahm. 1/3 der Tiere bei 3130 μatm fraßen im Vergleich zur verbrauchten Energie so wenig, dass berechnet werden konnte, dass diese Tiere keine energetischen Ressourcen für Wachstum zur Verfügung hatten. Gezeigt werden konnte somit, dass zu wenig verfügbare Energie für ausbleibendes Wachstum verantwortlich ist. Ob jedoch im Umkehrschluss ebenfalls verringerte Größe auch für proportional zu kleine Fraßraten verantwortlich sein kann, ist weiterhin nicht beantwortet.

Es wurde diskutiert, dass die gesteigerte Ammoniumexkretion auf einen Versuch der Homöostase-Regulation zurück zu führen sein könnte, was den Tieren bei versauerter Umgebung eventuell bei der Aufrechterhaltung der Kalzifizierung hilft und gegebenenfalls weitere negative Effekte durch einen sinkenden extrazellulären pH abpuffert. Dass die gesteigerte Exkretion von Ammonium auf eine vermehrte Umsetzung von Proteinen zurückzuführen ist, ließ sich mit Hilfe des sinkenden O:N – Verhältnisses bei starker Versauerung zeigen. Die energetische Effizienz der Tiere bei verschiedenen $p\text{CO}_2$ s zeigte keinen signifikanten Unterschiede, lieferte jedoch einen Trend geringerer Umsetzung von aufgenommener Nahrung in Wachstum, was eventuell auf einen gesteigerten Energiebedarf für die Aufrechterhaltung von Homöostase und Kalzifizierung zurückzuführen ist. Verallgemeinernd konnte eine deutliche Veränderung der mittleren Energie-Nutzungsbilanz aufgestellt werden, wobei eine verringerte energetische Investition in Wachstum proportional gesteigerten energetischen Kosten für die Aufrechterhaltung des Lebenunterhalts gegenüber standen.

Trotz ausbleibender pH-Regulation des Extrazellularraumes, konnten für *A. rubens* im Gegensatz zu vielen andern Echinodermaten keine oberflächlichen Kalzifizierungs-Schwierigkeiten bei versauerten Bedingungen festgestellt werden. Anhand einer Pilotstudie mit Röntgen- und computertomographischen Aufnahmen zu qualitativen Kalzifizierungs-Unterschieden konnten jedoch

Hinweise auf Veränderungen der Skelettstruktur durch eine verminderte Festigkeit und eine eventuell vorhandene Umstrukturierung des Skeletts beobachtet werden.

Zusammengefasst lassen die Ergebnisse dieser Arbeit vermuten, dass Seewasserversauerung *A. rubens* und damit auch die Zusammensetzung seines Ökosystems trotz relativer Robustheit selbst von juvenilen Tieren langfristig negativ beeinflussen kann, wenn die zukünftigen Bedingungen im Seewasser die sonst ganzjährig stattfindende Rekrutierung von Juveniltieren in die adulte Lebensphase über Teile des Jahres unmöglich machen sollte.

Weiterführende Studien müssen die Auswirkungen von Seewasserversauerung auf weitere Lebensphasen von *A. rubens* (vorzüglich die der anfälligen Befruchtung und der der Larvenstadien) untersuchen und bei größerer Detailliertheit der Forschungsmethoden vor allem Ökosysteminteraktionen genau beschreiben. Dadurch könnten langfristig Aussagen über die eventuell veränderliche Bedeutung des Hauptprädatoren *A. rubens* im artenarmen Ökosystem der westlichen Ostsee getroffen werden.

F. LITERATURVERZEICHNIS

Al-Horani, F. A. et al. (2003). "Microsensor study of photosynthesis and calcification in the scleractinian coral, *Galaxea fascicularis*: active internal carbon cycle." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 288(1): 1-15.

Ambrose, W. G. et al. (2001). "Role of Echinoderms in benthic remineralization in the Chukchi Sea." *Marine Biology* 139(5): 937-949.

Ameye, L., R. et al. (2000). "Ultrastructure of sea urchin calcified tissues after high-pressure freezing and freeze substitution." *Journal of Structural Biology* 131(2): 116-125.

Appelhans, Y. A. et al. (eingereicht 2011). "Sour times for Benthic Predators - The Influence of Seawater Acidification on Growth, Feeding Behaviour and Acid-Base Status of *Asterias rubens* and *Carcinus maenas*."

Appelhans, Y. A. and Thomsen, J (unveröffentlichte Daten, 2009). "Langzeitversuch zur Ozeanversauerung mit juvenilen *Asterias rubens* zeigt vermindertes Wachstum, Fraß und Aktivität." IFM-Geomar Kiel.

Binyon, J. (1961). "Salinity tolerance and permeability to water of the starfish *Asterias rubens* L." *J.Mar.Biol.Ass.U.K.* 41: 161-174.

Blake, D. B. and F. H. C. Hotchkiss (2004). "Recognition of the asteroid (Echinodermata) crown group: Implications of the ventral skeleton." *Journal of Paleontology* 78(2): 359-370.

Borges, A. V. and N. Gypens (2010). "Carbonate chemistry in the coastal zone responds more strongly to eutrophication than to ocean acidification." *Limnology and Oceanography* 55(1): 346-353.

Boron, W F (2004). "Regulation of intracellular pH". *Adv.Phyiol.Edu.* 28(1-4): 60-179.

Brey, T. R. et al. (1988). "Energy content of macrobenthic invertebrates: General conversion factors from weight to energy." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 117: 271-278.

Calabrese, E. J. (2005). "Toxicological awakenings: The rebirth of hormesis as a central pillar of toxicology." *Toxicol Appl. Pharmacology* 204: 1-8.

Caldeira, K. and Wicket., E (2003). "Anthropogenic carbon and ocean pH." *Nature* 425: 365-366.

Clark, D et al. (2009). "Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: A comparison among a tropical, temperate, and a polar species." *Mar Biol* 156:1125–1137

Cole, R. N. B. et al. (1981). "The contribution of respiratory papulae and tube feet to oxygen uptake in the sea star *Asterias forbesi* (Desor)." *Marine Biology Letters* 2: 279-287.

- Comeau, S. et al. (2010).** "Larvae of the pteropod *Cavolinia inflexa* exposed to aragonite undersaturation are viable but shell-less." *Marine Biology* 157(10): 2341-2345.
- Dandrea, A. F. et al. (1996).** "Sublethal effects of cadmium on arm regeneration in the burrowing brittlestar, *Microphiopholis gracillima*." *Ecotoxicology* 5(2): 115-133.
- Davoult, D. et al. (2009).** "Contribution of a Dense Population of the Brittle Star *Acrocnida brachiata* (Montagu) to the Biogeochemical Fluxes of CO₂ in a Temperate Coastal Ecosystem." *Estuaries and Coasts* 32(6): 1103-1110.
- Deigweier, K et al. (2010).** "Hypercapnia induced shifts in gill energy budgets on antarctic notothenioids." *Journal of Comparative Physiology B* 180: 347-359
- Doney, S. C. et al. (2009).** "Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem." *Annual Review of Marine Science* 1: 169-192.
- Doney, S. C. S. D. S. (2007).** "Carbon Climate System coupling on timescales from the Precambrian to the Anthropocene." *Annu.Rev.Envirn.Resour.* 32(31-66).
- Dubois, P. and Ameye, L. (2001).** "Regeneration of spines and pedicellariae in echinoderms: A review." *Microscopy Research and Technique* 55(6): 427-437.
- Dupont, S et al. (2008).** "Near-future level of CO₂-driven ocean acidification radically affects larval survival and development in the brittlestar *Ophiothrix fragilis*." *Marine Ecology-Progress Series* 373: 285-294.
- Dupont, S. and Thorndyke, M C (2008).** "Ocean acidification and its impact on the early life-history stages of marine animals." *CIESM Monographs Impacts of acidification on biological, chemical and physical systems in the Mediterranean and Black Seas*, Vol 36: 89-97.
- Dupont, S. and Thorndyke, M C (2009).** "Impact of CO₂-driven ocean acidification on invertebrates early life-history - What we know, what we need to know and what we can do." *Biogeosciences Discussion* 6: 3109-3131.
- Dupont, S. et al. (2010a).** "Impact of near-future ocean acidification on echinoderms." *Ecotoxicology* 19(3): 449-462.
- Dupont, S. et al. (2010b).** "What meta-analysis can tell us about vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification?" *Estuarine Coastal and Shelf Science* 89(2): 182-185.
- Elliot, J. M. and Davison, W (1975).** "Energy Equivalents of Oxygen Consumption in Animal Energetics." *Oecologica* 19: 195-201.
- Eylers, J. P. (2005).** "Aspects of skeletal mechanics of the starfish *Asterias forbesii*." *Journal of morphology* 149(3): 353-367.
- Fabry, V. J. (2008).** "Ocean science - Marine calcifiers in a high-CO₂ ocean." *Science* 320(5879): 1020-1022.

- Feely, R. A. et al. (2004).** "Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans." *Science* 305(5682): 362-366.
- Fish, J. (2008).** "Anaesthesia and Analgesia in Laboratory Animals." Academic Press of Elsevier 2nd Edition.
- Gaudry, A. (1851).** "Mémoire sur les pièces solides chez les stellerides." *Ann.Sci.Nat.* 3^{ème} série Zool. 16: 339-379.
- Gazeau, F et al. (2007).** "Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification." *Geophysical Research Letters* 34(7).
- Ginsburg, D. W. and D. T. Manahan (2009).** "Developmental physiology of Antarctic asteroids with different life-history modes." *Marine Biology* 156(11): 2391-2402.
- Gnaiger, E. (1983).** "Appendix C. Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption." *Polarographic Oxygen Sensors*.
- Gooding, R. A. et al. (2009).** "Elevated water temperature and carbon dioxide concentration increase the growth of a keystone echinoderm." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(23): 9316-9321.
- Guinotte, J. M. et al. (2006).** "Will human-induced changes in seawater chemistry alter the distribution of deep-sea scleractinian corals?" *Frontiers in Ecology and the Environment* 4(3): 141-146.
- Guppy, M. and P. Withers (1999).** "Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations." *Biological Reviews* 74(1): 1-40.
- Gutowska, M A et al. (2010a).** "Acid-base regulatory ability of the cephalopod (*Sepia officinalis*) in response to environmental hypercapnia." *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* 180(3): 323-335.
- Gutowska, M A et al. (2010b).** "Cuttlebone calcification increases during exposure to elevated seawater pCO₂ in the cephalopod *Sepia officinalis*." *Marine Biology* 157(7): 1653-1663.
- Hansen, H. P. et al. (1999).** "Seasonal and long-term control of bottom-water oxygen deficiency in a stratified shallow-water coastal system." *ICES Journal of Marine Science* 56: 65-71.
- Harris, L. G. et al. (1998).** "Changing ecological patterns for two *Asterias* species in the southwestern Gulf of Maine over a 20 year period." *Proceeding of the 9th International Echinoderm Conference* 243-248.
- Hautmann, M et al. (2008).** "Catastrophic ocean acidification at the Triassic-Jurassic boundary." *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie-Abhandlungen* 249(1): 119-127.

- Havenhand, J. N et al. (2008).** "Near-future levels of ocean acidification reduce fertilization success in a sea urchin." *Current Biology* 18(15): R651-R652.
- Helmuth, B et al. (2006).** "Living on the edge of two changing worlds: Forecasting the responses of rocky intertidal ecosystems to climate change." *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37: 373-404.
- Hendriks, I E et al. (2010).** „Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: A meta-analysis." *Estuarine, coastal and shelf science*. 86(2): 157-164
- Hendriks, I E & Duarte, C M (2010).** „Ocean acidification: Separating evidence from judgment e A reply to Dupont et al." *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 89:186-190
- Hermans, J (2010).** Incorporation du Magnésium dans les Squelettes calcitiques des echinoderms et des Éponges Hypercalcificées". Doktorarbeit, Université Libre de Bruxelles.
- Hiscock, K et al. (2001).** "The Impact of climate Change on Subtidal and Intertidal benthic Species in Scotland". Report to Scottish Natural Heritage from the Marine Biological Association of the UK.
- Houlihan, D. F. and Duthie, G (1981).** "Measurement of Oxygen Consumption and Sampling of Body Fluids of Echinoderms in situ." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 51: 97-106.
- Irving, L. (1926).** "Regulation of th Hydrogen Ion Concentration and its Relation to Metabolism and Respiration in the Starfish." *The Journal of General Physiology* 10(2): 345-358.
- Jernelöv, A and Rosenberg, R (1976).** „Stress Tolerance in Ecosystems." *Environmental Conservation*, 3: 43-46 ABSTRACT
- Kellermann, A. (1981).** "Struktur, Dynamik und Produktivität einer Lebensgemeinschaft Mytilusbank in der Eckernförder Bucht (Westl.Ostsee)." Diplomarbeit am IFM Kiel.
- Körtzinger, A. (2010).** "Der globale Kohlenstoffkreislauf im Anthropozän: Betrachtung aus meereschemischer Perspektive." *Chemie in unserer Zeit* 44(2): 118-129.
- Kowalski, R. (1955).** "Untersuchungen zur Biologie des Seesternes *Asterias rubens* in Brackwasser." *Kieler Meeresforschung* XI(2): 201-213.
- Kroeker, K. J. et al. (2010).** "Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms." *Ecology Letters* 13(11): 1419-1434.
- Kurihara, H. (2008).** "Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates." *Marine Ecology-Progress Series* 373: 275-284.
- Langenbuch, M and Pörtner, H O (2002).** „Changes in metabolic rate and N excretion in the marine invertebrate *Sipunculus nudus* under conditions of environmental hypercapnia: identifying effective acid–base variable." *Journal of Experimental Biology* 205: 1153-1160

- Lebrato, M. et al. (2010).** "Global contribution of echinoderms to the marine carbon cycle: CaCO₃ budget and benthic compartments." *Ecological Monographs* 80(3): 441-467.
- Leong, P K K and Manahan, D T (1997).** „Metabolic importance of Na⁺/K⁺-ATPase activity during sea urchin development." *J.Exp.Biol.* 200:2881-2892
- Collard M et al. (2011).** "Ocean acidification impacts on the physiology and adhesive properties of the starfish *Asterias rubens*." Book of Abstracts: Vliz Young Marine Scientists' Day pp. 20 ABSTRACT
- Mayzaud, P. and Conover et al. (1988).** "O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism." *Marine Ecology- Progress Series* 45: 269-302.
- Melzner, F et al. (2009a).** "Physiological basis for high CO₂ tolerance in marine ectothermic animals: Pre-adaptation through lifestyle and ontogeny?" *Biogeosciences* 6(10): 2313-2331.
- Melzner, F. et al (2009b).** „Swimming performance in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) following long-term (4–12 months) acclimation to elevated sea water pCO₂, *Aquat. Toxicol.*, 92: 30–37.
- Meyer, H (1935).** "Die Atmung von *Asterias rubens* und ihre Abhängigkeit von verschiedenen Außenfaktoren." *Zoologischen Jahrbuch der Abteilung für allgemeine Zoologie und Physiologie.* 55: 349-398.
- Michaelidis, B et al (2005).** „Effects of long-term moderate hypercapnia on acid–base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*." *Marine Ecology Progress Series*, 293: 109-118.
- Nauen, C. (1978).** "Populationsdynamik und Ökologie des Sessterns *Asterias rubens* L in der Kieler Bucht." Doktorarbeit: 219 Seiten, IFM Kiel.
- Nauen, C. E. and Blöhm, L (1979).** "Skeletal Growth in the Echinoderm *Asterias rubens* L. (Asteroidea, Echinodermata) estimated by ⁴⁵Ca-Labeling." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 38: 261-269.
- Okumuş, I and Stirling, H P (1998).** „Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs." *Aquaculture* 159 (3-4): 249-261
- Omstedt, A et al. (2010).** "Factors influencing the acid-base (pH) balance in the Baltic Sea: a sensitivity analysis." *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology* 62(4): 280-295.
- Pörtner H O et al. (1998).** "Acid–base regulation, metabolism and energetics in *Sipunculus nudus* as a function of ambient carbon dioxide level." *J Exp Biol* 201:43–55
- Pörtner, H O (2004).** "Biological Impact of Elevated Ocean CO₂ Concentrations: lessons from Animal Physiology and Earth History." *Journal of Oceanography*, 60:705-718
- Pörtner H O and Knust R (2007).** "Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance." *Science*, 315: 95-97

- Pörtner, H. O. (2008).** "Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view." *Marine Ecology-Progress Series* 373: 203-217.
- Pörtner, H. O. and Farrell, A P (2008).** "Ecology Physiology and Climate Change." *Science* 322(5902): 690-692.
- Potera, C. (2010).** "Will Ocean Acidification Erode the Base of the Food Web?" *Environmental Health Perspectives* 118(4): A157-A157.
- Reipschläger A and Pörtner HO (1996).** „ Metabolic depression during environmental stress: the role of extra- versus intracellular pH in the *Sipunculus nudus*." *J Exp Biol* 199: 1801–1807
- Raven, J. et al. (2005).** "Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide." The Royal Society London.
- Riebesell, U. et al. (2007).** "Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean." *Nature* 450(7169): 545-U510.
- Ries, J. B. et al. (2009).** "Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification." *Geology* 37(12): 1131-1134.
- Sabine, C. L. et al. (2004).** "The Oceanic Sink for CO₂." *Science* 305: 367-371.
- Saiger, B (2001).** "Direct and indirect effects of Seastars (*Asterias rubens*) on mussel beds (*Mytilus edulis*) in the Wadden Sea." *Journal of Sea Research* 46(1): 29-42.
- Shirayama Y, Thornton H (2005).** "Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos." *J Geophys Res* 110,7 pages.
- Shirley, T C and Stickle W B 1982.** "Responses of *Leptasterias hexactis* (Echinodermata:Asteroidea) to low salinity II. Nitrogen metabolism, respiration and energy budget." *Mar Biol* 69: 155-163.
- Somero G N (1985).** "Intracellular pH, buffering substances and proteins: Imidazole protonation and the conservation of protein structure and function." In: Gilles R, Gilles-Baillien M (eds) *Transport processes, iono- and osmoregulation*. Springer-Verlag, Berlin, p 454–468
- Solomon, S. et al. (2007).** "Climate Change 2007: The Physical Science basis: Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change."
- Sommer, U et al (1999).** "An experimental analysis of the importance of body-size in the seastar-mussel predator-prey relationship. *Acta Oecol* 20:81-86
- Stauber, M. and Märkel, K (1988).** "Comparative morphology of muscle-skeleton attachments in the Echinodermata." *Zoomorphology* 108: 137-148.

Stumpp, M. et al. (eingereicht 2010). "CO₂ induced seawater acidification impacts sea urchin larval development I: elevated metabolic rates decrease scope for growth and induce developmental delay."

The R-Team. (2009). "R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing."

Temara, A et al. (1998). "High sensitivity of skeletogenesis to Pb in the asteroid *A. rubens* (Echinodermata) (vol 40, pg 1, 1997)." *Aquatic Toxicology* 43(1): 69-69.

Thomsen, J. and F. Melzner (2010). "Moderate seawater acidification does not elicit long-term metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*." *Marine Biology* 157(12): 2667-2676.

Thomsen, J. et al. (2010). "Calcifying invertebrates succeed in a naturally CO₂ enriched coastal habitat but are threatened by high levels of future acidification." *Biogeosciences Discussion* 7: 5119-5156.

Turley, C et al. (2010). "The societal challenge of ocean acidification." *Marine Pollution Bulletin* 60(6): 787-792.

Uhlmann, K. (1968). "Über die Verbindung der Muskulatur mit dem Skelett bei dem Echinodermaten *Asterias rubens*." *L.Z. Zellforsch.* 87: 210-217.

Vevers, H. G. (1952). "The Biology of *Asterias rubens* L. IV. Variation in the Sex Ratio." *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 31: 35-40.

Widdicombe, S. et al. (2010). "Laboratory experiments and mesocosm studies." *Guide for best practices in ocean acidification research and data reporting.*

Widdows, J. and Johnson, D (1988). "Physiological energetics of *Mytilus edulis*: Scope for Growth." *Marine Ecology-Progress Series* 46: 113-121.

Wood, C M et al (2002). "Obligatory Urea Production and the Cost of Living in the Magadi tilapia revealed by Acclimation to reduced Salinity and Alcalinity." *Physiol.Biochem.Zool.*, 75(2), S.111-122.

Wood, H. L. et al. (2008). "Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost." *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 275(1644): 1767-1773.

Wood, H. L. et al. (2009). "The influence of hypercapnia and the infaunal brittlestar *Amphiura filiformis* on sediment nutrient flux - will ocean acidification affect nutrient exchange?" *Biogeosciences* 6(10): 2015-2024.

G. ANHANG

1. ERGÄNZUNGSGRAFIKEN ZUR GEWICHTSVERÄNDERUNG (IN GRAMM)

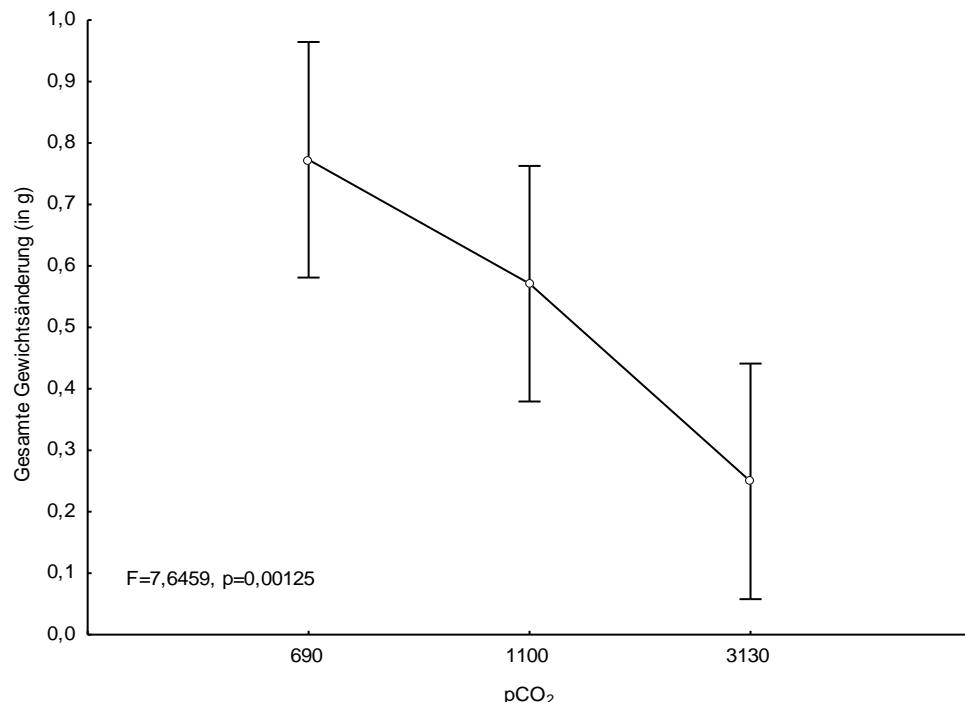


Abb.45 Gesamt-Veränderung des Gewichtes in g nach 6 Wochen.

Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

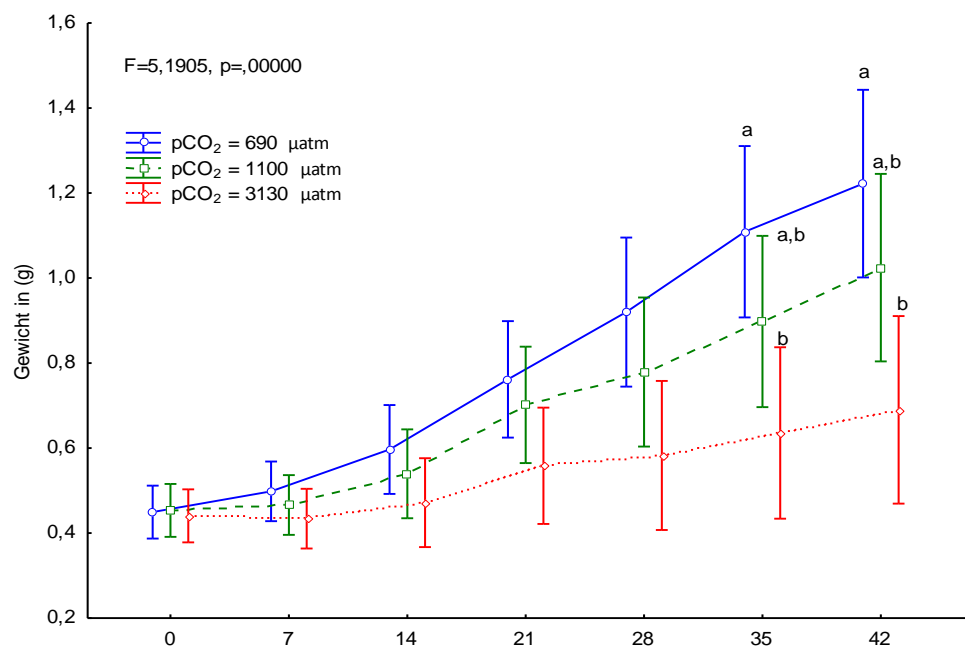


Abb.46 Veränderung des Gewichtes in g. Summative Entwicklung über den 6-wöchigen Versuchszeitraum.

Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

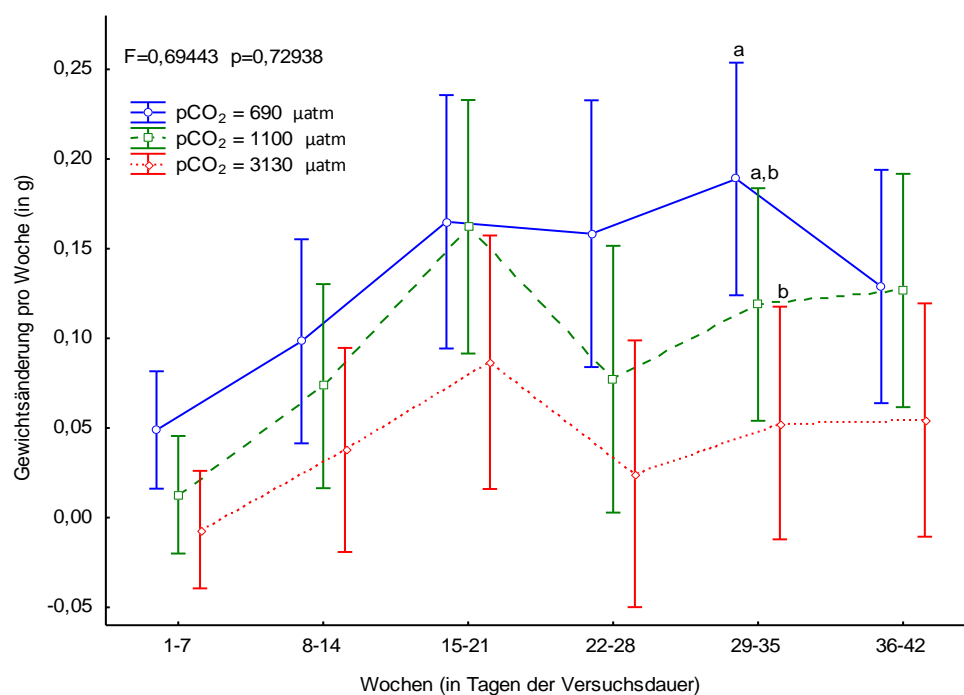


Abb.47 Gewichtsveränderung pro Woche in g. Als Vergleich steht in jeder Woche das Gewicht der Vorwoche.

Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

2. ERGÄNZUNGSGRAFIKEN ZUM GRÖßENWACHSTUM (IN CM)

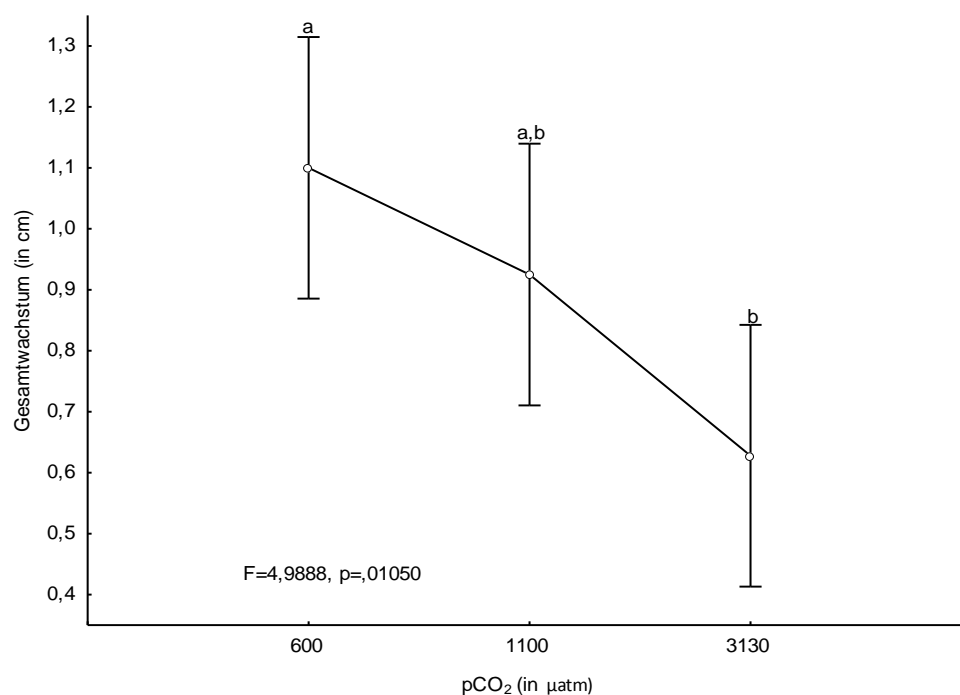


Abb.48 Gesamt-Veränderung der Größe in cm nach 6 Wochen.

Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

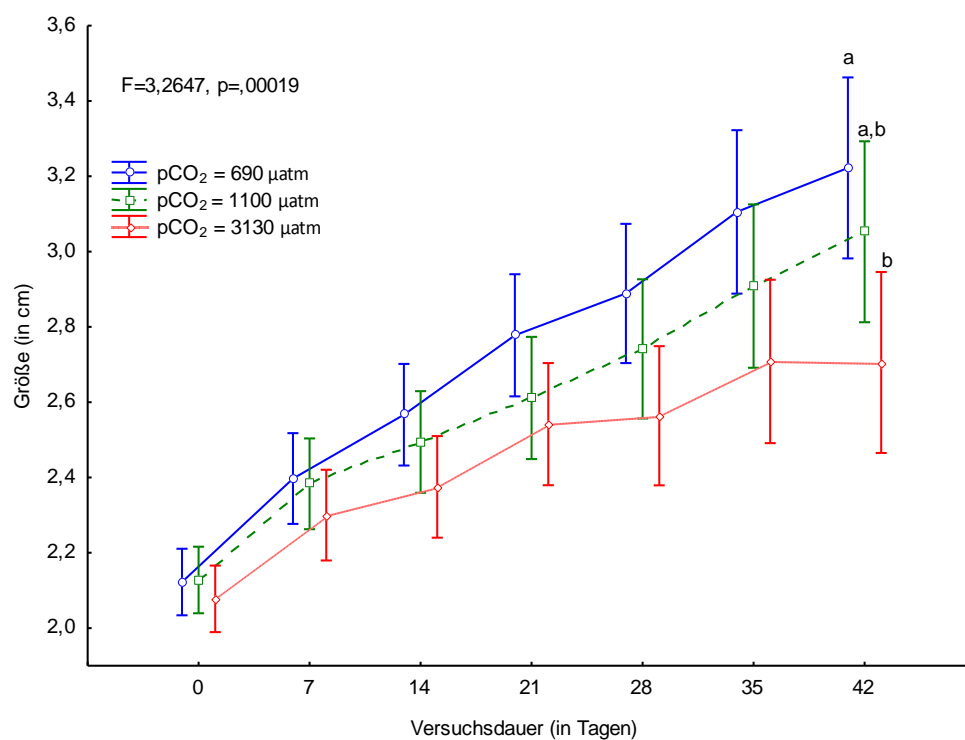


Abb.49 Veränderung der Größe in cm innerhalb des sechswöchigen Versuchszeitraumes.

Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

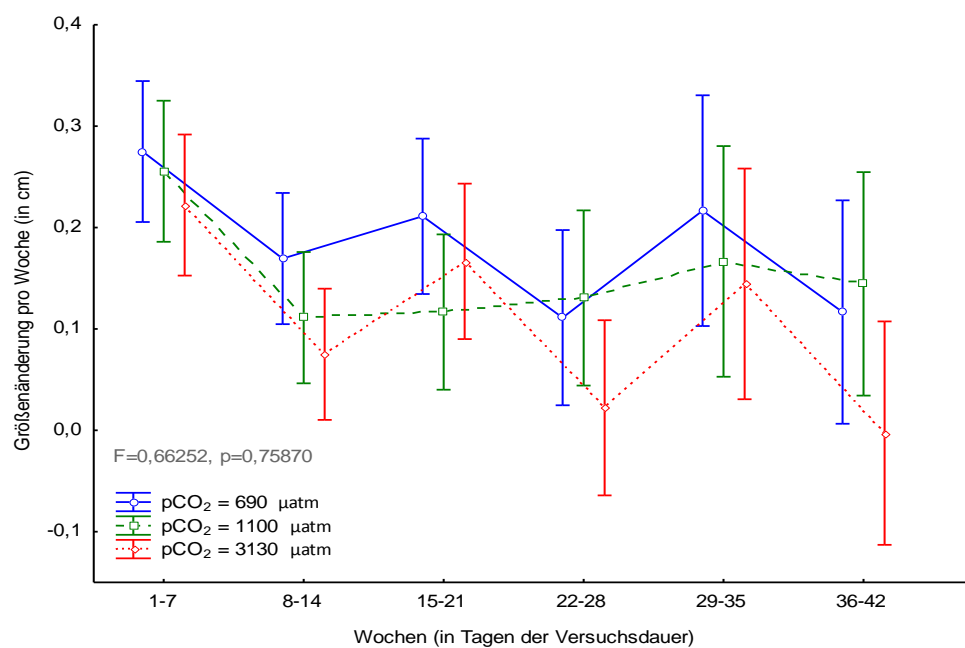


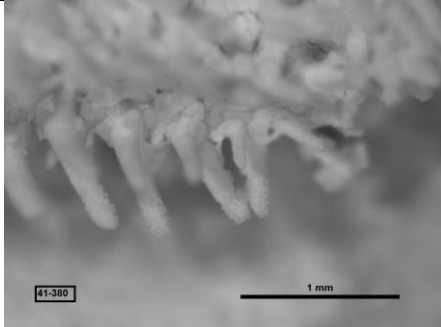
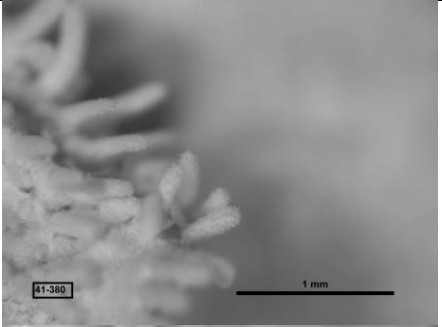
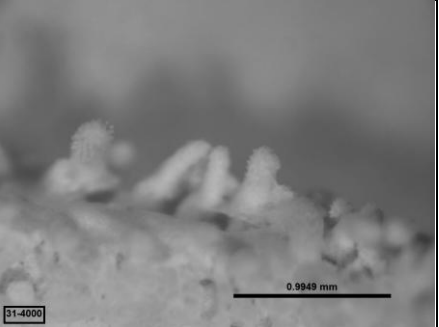
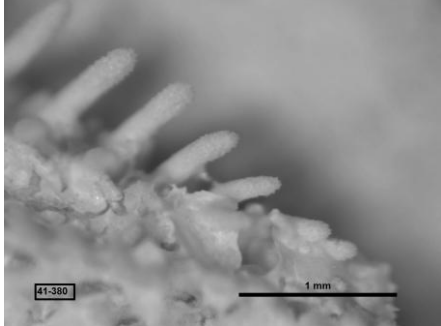
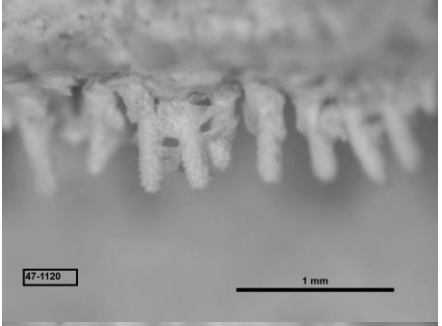
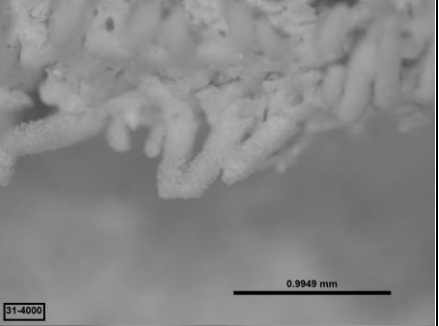
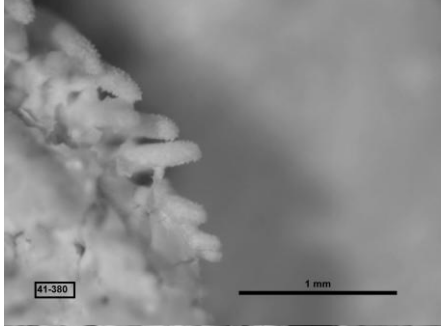
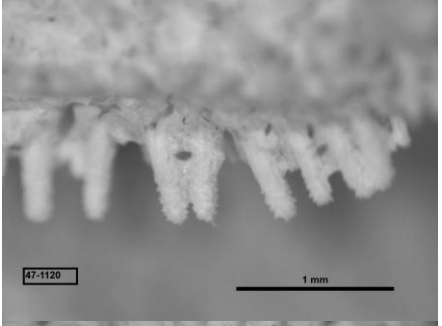
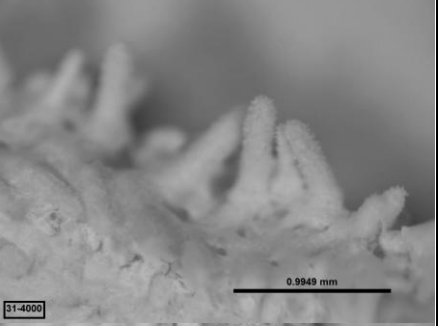
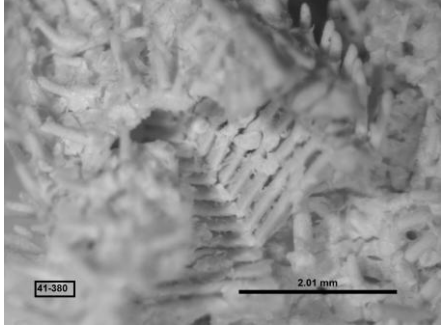
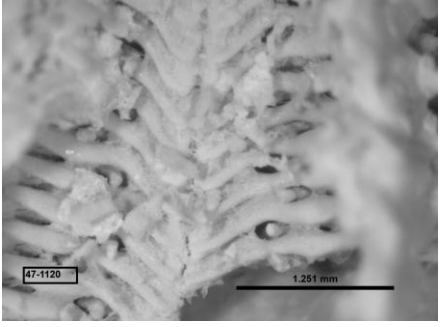
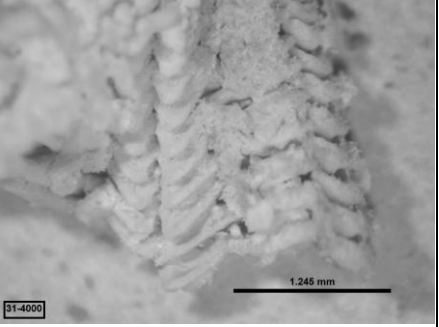
Abb.50 Veränderung des Größenwachstums (in cm) pro Versuchswoche. Als Referenz steht jeweils die Größe der Vorwoche.

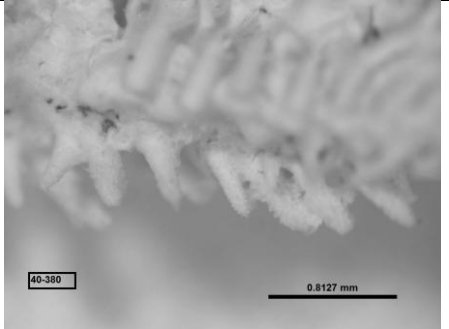
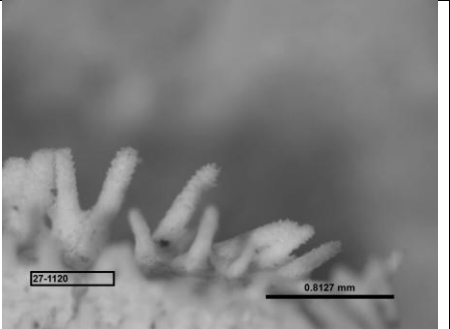
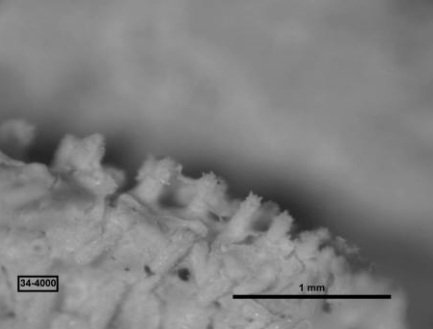
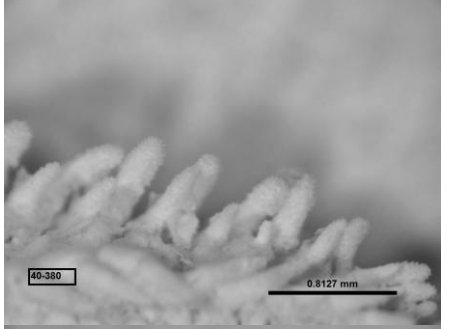
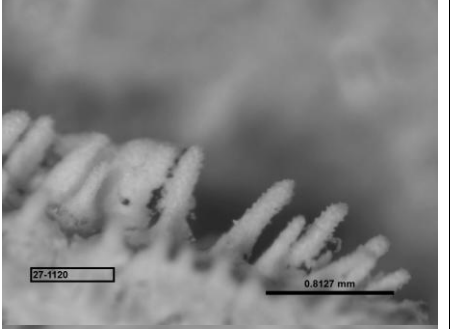
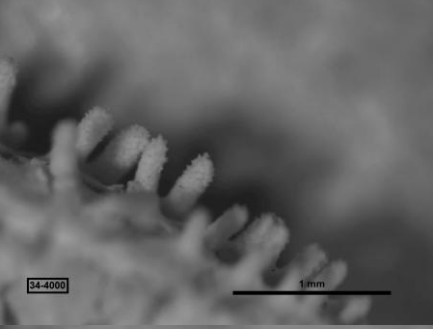
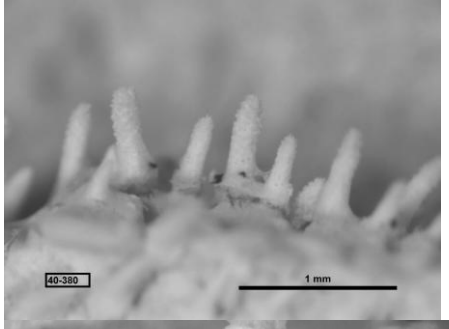
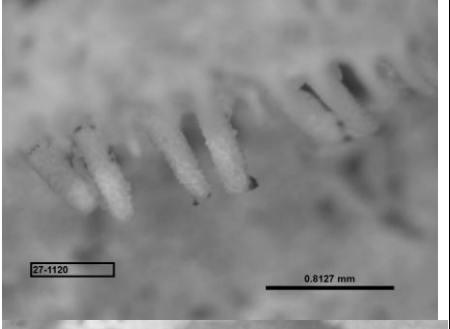
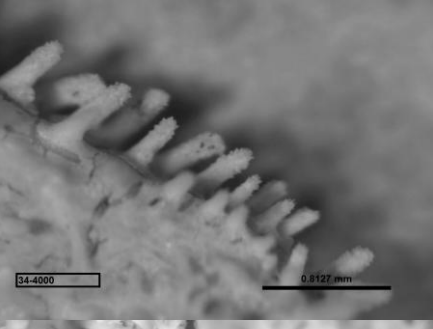
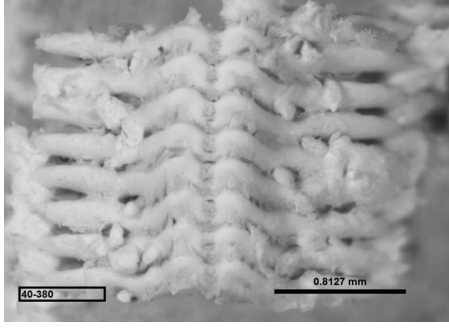
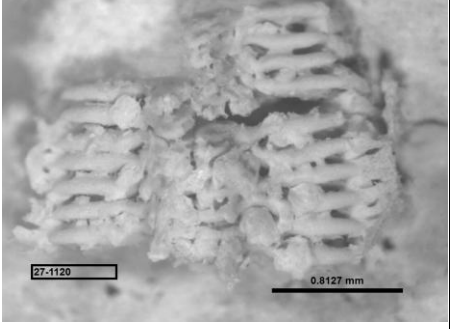
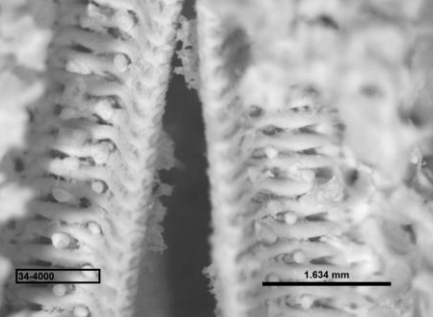
Varianz-Balken zeigen 95% Konfidenzintervalle an, Punkte zeigen die jeweiligen Mittelwerte an, unterschiedliche Buchstaben über den Balken signifikante Unterschiede.

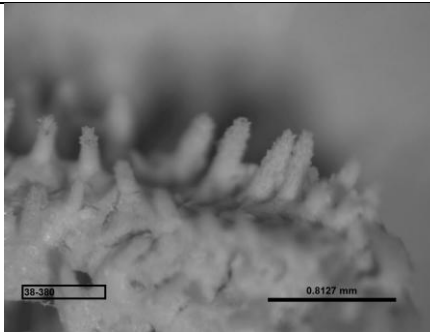
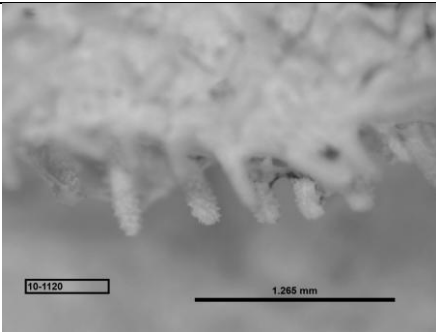
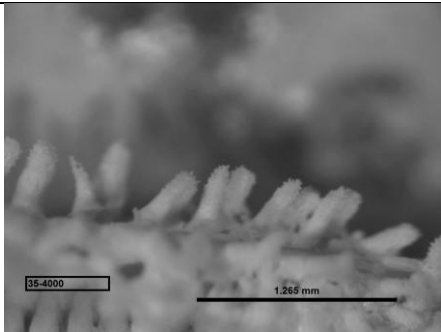
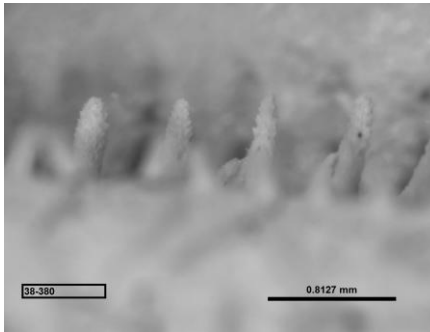
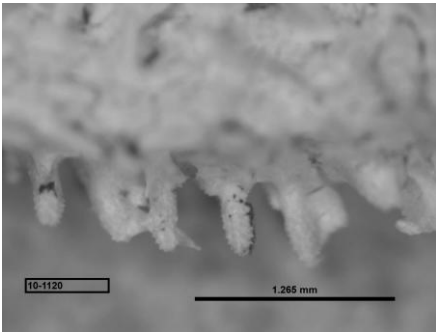
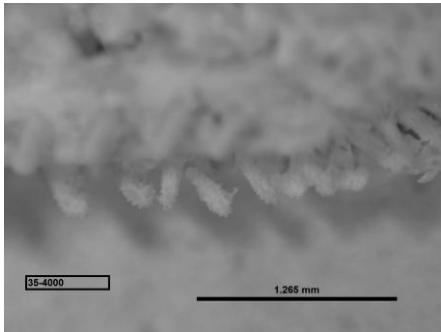
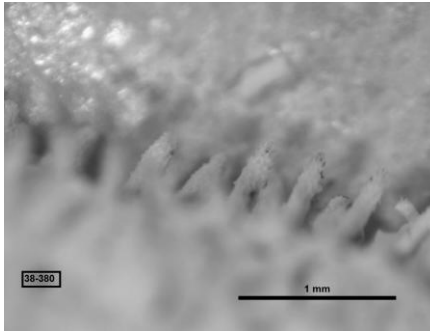
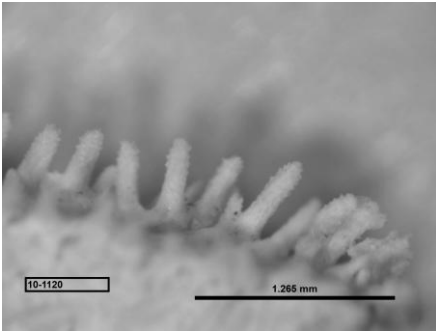
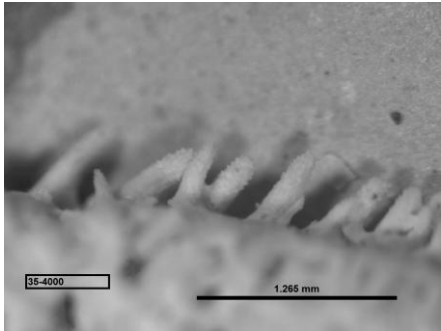
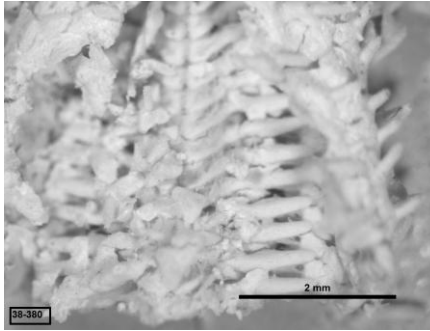
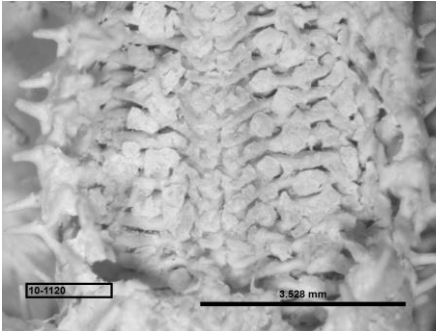
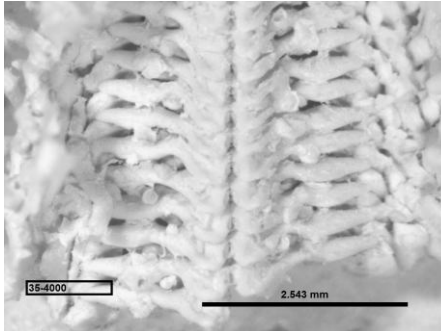
3. ÜBERSICHT SKELETT-FEINSTRUKTUREN

Tab. 4

Feinstrukturen der Stacheln an den Armspitzen jedes Armes (**Reihe 1-5 auf jeder Seite**) und des Ambulakralsystems (**Reihe 5 auf jeder Seite**). Zuordnung der Aufnahmen anhand der schwarzen Box: Erste Zahl=Individuenummer, zweite Zahl=Behandlungsebene [380, 1120 und 4000 ppm Einsprudel-Luft].

690 µatm	1100 µatm	3130 µatm
		
		
		
		

690 μatm	1100 μatm	3130 μatm
		
		
		
		

690 μ atm	1100 μ atm	3130 μ atm
		
		
		
		

4. ANOVA-TABELLE

Tab. 5

Übersicht über die Ergebnisse der Tests Varianzanalyse (ANOVA) und Kovarianzanalyse (ANCOVA). Für die *Repeated Measurements* ANOVAS wurden alle geprüften Unterschiede angegeben, die in den Abbildungen vermerkten Signifikanzen beziehen sich dabei auf die hier fett markierten Zeilen. Das Signifikanz-Level ist, falls in der rechten Spalte nicht anders genannt, bei 0,05

Untersuchter Parameter	Unterschiede zwischen...	Sums of Squares	Degrees of Freedom	Mean Squares	F	P [Signifikanz-Level]
Gewichtsveränderung Gesamt in %	$p\text{CO}_2$	128000	2	64200	8,081	0,001
Gewichtsentwicklung (summativ) in %	$p\text{CO}_2$	220000	2	110000	6,63	0,003
	Woche	526000	5	105000	78,93	0,000
	$p\text{CO}_2^*$ Woche	86100	10	8607	6,46	0,0000
Gewichtsveränderung pro Woche in %	$p\text{CO}_2$	8443	2	4222	8,556	0,001
	Woche	13500	5	2691	7,355	0,000
	$p\text{CO}_2^*$ Woche	1624	10	162	0,444	0,924
Größenveränderung Gesamt in %	$p\text{CO}_2$	4582	2	2291	4,841	0,012
Größenentwicklung (summativ) in %	$p\text{CO}_2$	7578	2	3789	3,74	0,031 [p<0,01]
	Woche	36400	5	7271	84,26	0,000 [p<0,01]
	$p\text{CO}_2^*$ Woche	2557	10	256	2,96	0,002 [p<0,01]
Größenveränderung pro Woche in %	$p\text{CO}_2$	407	2	203,7	4,06	0,023 [p<0,01]
	Woche	2841	5	568,2	10,16	0,000 [p<0,01]
	$p\text{CO}_2^*$ Woche	345	10	345	0,62	0,023 [p<0,01]
Fraß Gesamt-Unterschiede	$p\text{CO}_2$	34100	2	17100	6,537	0,003 [p<0,01]
Fraßentwicklung (summativ)	$p\text{CO}_2$	42300	2	21200	5,5	0,07 [p<0,01]
	Woche	239000	5	47800	109,2	0,000 [p<0,01]
	$p\text{CO}_2^*$ Woche	26300	10	2630	6,0	0,000 [p<0,01]
Fraß pro Woche	$p\text{CO}_2$	5001	2	2501	6,59	0,03 [p<0,01]

Untersuchter Parameter	Unterschiede zwischen...	Sums of Squares	Degrees of Freedom	Mean Squares	F	P [Signifikanz-Level]
ENERGIEEFFIZIENZ A) <i>Scope for Growth</i> -Vergleich	$p\text{CO}_2$	10200000	2	5090000	4,820	0,012
B) ANOVA Aufgebaute Energie vs. Aufgenommene Energie	$p\text{CO}_2$	0,120	2	0,60	1,782	0,179
C) ANCOVA Aufgenommene-vs. Aufgebaute Energie	$p\text{CO}_2^*$ Aufgenommene Energie	437000	2	219000	2,3	0,11
D) ANOVA Aufgebaute Energie vs. <i>SfG</i>	$p\text{CO}_2$	13,56	2	6,789	2,147	0,127
E) ANOCOVA Aufgebaute Energie vs. <i>SfG</i>	$p\text{CO}_2^*$ <i>SfG</i>	1540000	2	770000	7,5683	0,00134
Kalzifizierungsbestimmung durch Trocknung & Vermuffelung LOG(IST/SOLL)-Vergleich	$p\text{CO}_2$	173,2	2	86,52	1,169	0,319 [p<0,01]
Kalzifizierungsbestimmung durch Röntgenaufnahmen A) Ambulakrallbögen-Dichte	$p\text{CO}_2$	0,214	2	0,107	5,993	0,037
B) Graustufen der Armspitzen	$p\text{CO}_2$	490	2	245	6,916	0,028
C) Graustufen der ganzen Tiere	$p\text{CO}_2$	465,9	2	5,702	5,57822	0,03986
CT: Vergleich der Dichte des Kalkskeletts	$p\text{CO}_2$	3423	2	1711	1,712	0,258

H. DANKSAGUNG

Für die Chance einen Einblick in meeresbiologisches Arbeiten im Rahmen meiner Staatsexamensarbeit erlangen zu können, möchte ich mich bei den betreuenden Professoren Dr. Martin Wahl und Dr. Frank Melzner vielmals bedanken. Die positiven Erlebnisse während meiner Zeit am Institut für Benthosökologie werden mich später sicherlich für die Vermittlung des Faches Biologie an junge Nachwuchswissenschaftler leiten. Während meiner Examensarbeit konnte ich viel über die (akademischen) Tätigkeiten von Biologen lernen und hoffe diese später angemessen weiter geben zu können.

Vor allem für die mühevoll-akribische Durchsicht meiner Arbeit aber auch zahlreiche Hinweise und Tipps während der Versuchsdurchführung bin ich meinen Betreuern Yasmin Appelhans und Christian Pansch sehr dankbar und wünsche beiden für den Abschluss ihrer Doktorarbeit viel Erfolg. Dass für die beiden wissenschaftliches Denken und professioneller Umgang mit komplexen Sachverhalten zum Alltag geworden ist, hat zum Gelingen meiner Arbeit viel beigetragen. Ich hoffe, dass ihnen ihre Nachsichtigkeit und Geduld langfristig erhalten bleibt.

Besonderer Dank für unzählige Tipps und Erklärungen der für mich neuen marinen Physiologie gilt Jörn Thomsen. Obwohl er nicht mein offizieller Betreuer war, hätte ich ohne seinen unermüdlichen Einsatz viele Dinge erst sehr viel später begriffen. Bei seinen ‚Bürodamen‘ entschuldige ich mich aufrichtig für die vielen Störungen.

Mark Lenz bin ich für seine geduldigen und verständlichen Erklärungen zur Statistik sehr verbunden. Mandy Kierspel hat sich durch ihre Kompetenz und Hilfsbereitschaft bei organisatorischen Fragen und bei der Analyse meiner DIC-Proben als große Unterstützung verdient gemacht.

Dem Hund Mina danke ich für Bewegung und viel frische Luft um die Nase in der Mittagspause. Ihrer Besitzerin Kerstin Maczassek danke ich fürs Ausleihen von Mina und motivational verabreichte Schokolade.

Dem gesamten Institut danke ich für die freundliche Aufnahme und die netten fünf Monate in der Hohenbergstraße. Dass ich das offensichtlich im Dornröschenturm des Instituts lebende Schlossgespenst durch meine nächtlichen Arbeitseinsätze vergrault habe bereue ich zutiefst.

Für Unterstützung (beim Aufbauen des Experiments) und Verständnis (für mein soziales Ausbleiben während der Examensarbeit) bin ich meiner Freundin Sandra dankbar. Ohne die Unterstützung durch meine Familie und meine Freunde wäre die Arbeit um einiges anstrengender geworden.

I. ERKLÄRUNG

Ich erkläre, dass ich die Arbeit selbständig abgefasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwandt habe. Weiterhin erkläre ich, dass ich mit der Ausleihe der Arbeit einverstanden bin.

Hinweise zur Betreuung der empirischen Arbeit und deren Auswertung

Die Korrektoren der Arbeit waren Prof. Dr. Martin Wahl und Prof. Dr. Frank Melzner. Die inhaltliche Betreuung erfolgte durch Yasmin Appelhans, Christian Pansch (und Jörn Thomsen), alle drei sind Doktoranden am Institut für Benthosökologie. Der Grad der Betreuung erstreckte sich auf erklärende und beratende Funktionen. Alle Experimente wurden von mir selbstständig geplant, aufgebaut, durchgeführt und ausgewertet, wobei der experimentelle Aufbau mitunter an früheren Versuchen ausgerichtet wurde (siehe Methodenteil). Die Arbeit wurde ausschließlich von mir verfasst.

Kiel, den

.....

Sebastian Opitz